

Request Form for Translation

Translation Branch
The world of foreign prior art to you.



U. S. Serial No. : 09/914823

Requester's Name: Alycia Berman

Phone No. : 308-4638

Fax No. : _____

Office Location: CM1-3D12

Art Unit/Org. : 11617

Group Director: John Doll

Is this for Board of Patent Appeals? NO

Date of Request: 5/29/02

Date Needed By: 10/29/02

(Please do not write ASAP-indicate a specific date)

PTO 2002-3116

S.T.I.C. Translations Branch

Phone: 308-0881
Fax: 308-0989
Location: Crystal Plaza 3/4
Room 2C01

SPE Signature Required for RUSH: _____

Document Identification (Select One):

** (Note: Please attach a complete, legible copy of the document to be translated to this form) **

1. ☒ Patent Document No. 9-672666
Language Japanese
Country Code JP
Publication Date 3/4/97

2. ☐ Article No. of Pages _____ (filled by STIC)
Author _____
Language _____
Country _____

3. ☐ Other Type of Document _____
Country _____
Language _____

Document Delivery (Select Preference):

☒ Delivery to nearest EIC/Office Date: 6-10-02 (STIC Only)
☐ Call for Pick-up Date: _____ (STIC Only)
☐ Fax Back Date: _____ (STIC Only)

To assist us in providing the most cost effective service, please answer these questions:

Will you accept an English Language Equivalent?

Yes (Yes/No)

Will you accept an English abstract?

No (Yes/No)

Would you like a consultation with a translator to review the document prior to having a complete written translation?

No (Yes/No)

STIC USE ONLY

Copy/Search

Processor: 116
Date assigned: 6-3
Date filled: 6-3
Equivalent found: _____ (Yes/No)

Doc. No.: _____

Country: _____

Remarks: _____

Translation

Date logged in: 6-3-02
PTO estimated words: _____
Number of pages: 33
In-House Translation Available: _____
In-House: _____
Translator: _____
Assigned: _____
Returned: _____

Contractor: _____
Name: DW
Priority: 1
Sent: 6-14-02
Returned: 6-14-02

DERWENT TERMS AND CONDITIONS

Derwent shall not in any circumstances be liable or responsible for the completeness or accuracy of any Derwent translation and will not be liable for any direct, indirect, consequential or economic loss or loss of profit resulting directly or indirectly from the use of any translation by any customer.

Derwent Information Ltd. is part of The Thomson Corporation

Please visit our home page:

["WWW.DERWENT.CO.UK"](http://WWW.DERWENT.CO.UK) (English)
["WWW.DERWENT.CO.JP"](http://WWW.DERWENT.CO.JP) (Japanese)

MACHINE-ASSISTED TRANSLATION (MAT):

(19)【発行国】 日本国特許庁 (J P)	(19)[ISSUING COUNTRY] Japanese Patent Office (JP)
(12)【公報種別】 公開特許公報 (A)	Laid-open (Kokai) patent application number (A)
(11)【公開番号】 特開平 9 - 6 7 2 6 6	(11)[UNEXAMINED PATENT NUMBER] Unexamined Japanese Patent 9-67266
(43)【公開日】 平成 9 年 (1 9 9 7) 3 月 1 1 日	(43)[DATE OF FIRST PUBLICATION] March 11th, Heisei 9 (1997)
(54)【発明の名称】 ヒアルロニダーゼ阻害剤	(54)[TITLE] Hyaluronidase inhibitor
(51)【国際特許分類第 6 版】 A61K 35/80 AED 7/00 ADA 7/48	(51)[IPC] A61K 35/80 AED 7/00ADA7/48
【F I】 A61K 35/80 AED Z 7/00 W ADA K 7/48	[FI] A61K 35/80 AED Z 7/00 W ADA K7/48
【審査請求】 未請求	[EXAMINATION REQUEST] UNREQUESTED
【請求項の数】 1	[NUMBER OF CLAIMS] One
【出願形態】 O L	[Application form] O L
【全頁数】 1 0	[NUMBER OF PAGES] Ten
(21)【出願番号】 特願平 8 - 1 5 4 4 6 8	(21)[APPLICATION NUMBER] Japanese Patent Application No. 8-154468

(22) 【出願日】 平成 8 年 (1 9 9 6) 6 月 1 4 日	(22)[DATE OF FILING] June 14th, Heisei 8 (1996)
(31) 【優先権主張番号】 特願平 7 - 1 5 6 4 4 8	(31)[PRIORITY FILING NUMBER] Japanese Patent Application No. 7-156448
(32) 【優先日】 平 7 (1 9 9 5) 6 月 2 2 日	(32)[DATE OF EARLIEST CLAIMED PRIORITY] Heisei 7 (1995) June 22nd
(33) 【優先権主張国】 日本 (J P)	(33)[COUNTRY OF EARLIEST PRIORITY] Japan (JP)
(71) 【出願人】	(71)[PATENTEE/ASSIGNEE]
【識別番号】 0 0 0 0 0 6 7 6 9	[ID CODE] 000006769
【氏名又は名称】 ライオン株式会社	Lion Corporation
【住所又は居所】 東京都墨田区本所 1 丁目 3 番 7 号	[ADDRESS]
(72) 【発明者】	(72)[INVENTOR]
【氏名】 江幡 真也	Shinya Ehata
【住所又は居所】 東京都墨田区本所一丁目 3 番 7 号 ライオン株式会社内	[ADDRESS]
(72) 【発明者】	(72)[INVENTOR]
【氏名】 滝田 八広	Yasuhiro Takita
【住所又は居所】 東京都墨田区本所一丁目 3 番 7	[ADDRESS]

号 ライオン株式会社内

(72)【発明者】**(72)[INVENTOR]****【氏名】** 宮原 恒雄

Tsuneo Miyahara

【住所又は居所】**[ADDRESS]**東京都墨田区本所一丁目3番7
号 ライオン株式会社内**(74)【代理人】****(74)[PATENT AGENT]****【弁理士】****[PATENT ATTORNEY]****【氏名又は名称】**

藤本 博光 (外1名)

Hiromitsu Fujimoto (et al.)

(57)【要約】**(57)[SUMMARY]****【課題】**

緑藻類のヒトエグサ属、アオサ属、アオノリ属、ハネモ属、イワツタ属、ミル属、褐藻類のマツモ属、オキナワモズク属、モズク属、カジメ属、レソソニア属、マクロシステイス属、ヒバマタ属、アスコフィラム属、ダービリア属、紅藻類のアマノリ属、マクサ属、ヒラクサ属、オバクサ属、フノリ属、キリンサイ属、スギノリ属、I r i d a e a 属、ツノマタ属、ダルス属、イギス属に属する海藻の抽出物を有効成分として含有することを特徴とするヒアルロニダーゼ阻害剤。

【SUBJECT】

The extract of the sea weed belonging to the Monostroma genus of a Chlorophyceae, a Ulva genus, an Enteromorpha, a Bryopsis genus, a Caulerpa genus, a Codium genus, the Heterochordaria genus of a Phaeophyceae, a Cladosiphon genus, a Nemacystus genus, an Ecklonia genus, a Lessonia genus, a Macrocystis genus, the Fucus, an Ascophyllum genus, a Durvillea genus, the Porphyra of a Rhodophyceae, a Gelidium amansii genus, a Gelidium subcostatum genus, a Pterocladia, a Gloiopeltis genus, an Eucheuma, a Gigartina, Iridaea genus, a chondrus ocellatus (red algae) genus, a Rhodymenia genus, a Ceramium genus is contained as an active ingredient.

The hyaluronidase inhibitor characterized by the above-mentioned.

【解決手段】

ヒアルロン酸分解抑制作用によ

[SOLUTION]

Ageing prevention of the activated skin of a skin cell is achieved by the hyaluronic acid



り、皮膚細胞の賦活化、皮膚の老化防止が図られ、皺や肌荒れの発生を予防、滑らかでしっとりとした若々しい肌を与える優れた効果を有し、これを皮膚等の外用剤に配合することにより、安全性の高い皮膚外用剤等に好適なヒアルロニダーゼ阻害剤が提供される。また、関節の湿潤性を保ち、関節の治療剤等として、更に、抗炎症、抗アレルギー剤としても有用であり、医薬品、医薬部外品、化粧品等の各種用途に使用することができる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

緑藻類のヒトエグサ属、アオサ属、アオノリ属、ハネモ属、イワツタ属、ミル属、褐藻類のマツモ属、オキナワモズク属、モズク属、カジメ属、レソソニア属、マクロシスティス属、ヒバマタ属、アスコフィラム属、ダービリア属、紅藻類のアマノリ属、マクサ属、ヒラクサ属、オバクサ属、フノリ属、キリンサイ属、スギノリ属、I r i d a e a 属、ツノマタ属、ダルス属、イギス属に属する海藻の抽出物を有効成分として含有することを特徴とするヒアルロニダーゼ阻害剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

decomposition inhibitory effect.

Generation of a wrinkles or rough skin is prevented. It has the outstanding effect which gives the smooth, moist, and youthful.

By blending this with external preparation, such as the skin, the hyaluronidase inhibitor suitable for highly safety skin external preparation etc. is provided.

Moreover, the wettability of a joint is maintained and it is still useful also as the anti-inflammation and an antiallergic agent as a therapeutic agent of a joint etc.

It can use various applications, such as a pharmaceutical, a quasi-drug, and cosmetics.

【CLAIMS】

【CLAIM 1】

A hyaluronidase inhibitor, in which the extract of the sea weed belonging to the Monostroma genus of a Chlorophyceae, a Ulva genus, an Enteromorpha, a Bryopsis genus, a Caulerpa genus, a Codium genus, the Heterochordaria genus of a Phaeophyceae, a Cladosiphon genus, a Nemacystus genus, an Ecklonia genus, a Lessonia genus, a Macrocystis genus, the Fucus, an Ascophyllum genus, a Durvillea genus, the Porphyra of a Rhodophyceae, a Gelidium amansii genus, a Gelidium subcostatum genus, a Pterocladia, a Gloiopeltis genus, an Eucheuma, a Gigartina, Iridaea genus, a chondrus ocellatus (red algae) genus, a Rhodymenia genus, a Ceramium genus is contained as an active ingredient.

【DETAILED DESCRIPTION OF INVENTION】

【0001】

【産業上の利用分野】

本発明は、優れたヒアルロニダーゼ阻害活性を有する、極めて安全性の高い海藻抽出物よりなるヒアルロニダーゼ阻害剤に関する。

【0002】

【従来の技術】

ヒアルロニダーゼは、ヒアルロン酸の加水分解酵素であり、皮膚のほか動物組織に広く分布している。本酵素の基質となるヒアルロン酸は、皮膚、靱帯、関節液、眼の硝子体などの組織に多く存在するムコ多糖の一種であり、例えば、皮膚においては、細胞の保護、栄養の運搬、組織水分の保持、柔軟性の維持等に、また関節液として組織構造、機能の維持および潤滑性の保持等に、重要な役割を果たしている。

【0003】

皮膚や関節における生体ヒアルロン酸量は、老化または病的状態により減少することが知られており、その結果、皮膚の乾燥、肌荒れ、ハリ、弾力性の低下、シミ、シワの増加、あるいは関節の湿潤性悪化による関節痛等を引き起こす。このような状態に対して、ヒアルロニダーゼ阻害剤は、ヒアルロン酸の分解を抑制することにより生体ヒアルロン酸量の維持に寄与すると考えられている。また、最近では、ヒアルロン酸を配合した化粧料の皮膚への塗布や関節へのヒア

[INDUSTRIAL APPLICATION]

This invention relates to the hyaluronidase inhibitor which has the outstanding hyaluronidase inhibitory activity and which consists of a very highly safety sea weed extract.

[0002]

[PRIOR ART]

A hyaluronidase is the hydrolase of hyaluronic acid.

It is widely distributed over an animal tissue besides the skin.

The hyaluronic acid used as the substrate of this enzyme is one type of mucopolysaccharide which exists in tissue, such as skin, a ligament, a synovial fluid, and the vitreous body of the eyes, mostly.

For example, in the skin, the important role is achieved to protection of a cell, transport of a nutrition, the keeping of tissue moisture, the maintenance of softness, etc. Moreover the important role is achieved to a maintenance, the lubricative retaining, etc. of tissue structure and a function as a synovial fluid.

[0003]

Reducing the amount of living body hyaluronic acid in the skin or a joint according to ageing or morbid condition is known. As a result, the increase in a reduction of a skin dryness, rough skin, tension, and springiness, blotches, and wrinkles is caused. Or the articular pain by wettability aggravation of a joint etc. is caused.

About such condition, it is considered that a hyaluronidase inhibitor is contributed to a maintenance of the amount of living body hyaluronic acid by suppressing decomposition of hyaluronic acid.

Moreover, recently, measures, such as an application on the skin of the cosmetics which blended the hyaluronic acid, and an injection of the hyaluronic acid to a joint, are taken.

However, a hyaluronidase inhibitor is

ルロン酸の注入等の措置がとられているが、ヒアルロニダーゼ阻害剤は、これら外因性ヒアルロン酸の安定化にも利用することができる。

【0004】

さらに、ヒアルロニダーゼは、炎症時に活性化され、結合組織のマトリックスを破壊し、炎症系の細胞の組織への浸潤、血管の透過性を亢進すること、I型アレルギーにおける肥満細胞からのヒスタミン遊離の過程に介在している可能性が高いことなどが知られている。従って、ヒアルロニダーゼ阻害活性は、生体中のヒアルロン酸レベルの維持に関与するだけでなく、炎症症、抗アレルギー活性とも高い相関を示す。実際、これまでに開発された抗炎症剤、抗アレルギー剤であるインドメタシン、アスピリン、クロモグリク酸ナトリウム、トラニラストなど多くにヒアルロニダーゼ阻害活性が認められている。

【0005】

以上のようなことから、優れたヒアルロニダーゼ阻害活性を有し、かつ皮膚等の人体への適用に際し、高い安全性をもったヒアルロニダーゼ阻害剤の開発が期待されている。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】
本発明は、優れたヒアルロニダ

applicable also to stabilization of these exogenism hyaluronic acid.

[0004]

Furthermore, a hyaluronidase is activated at the time of inflammation.

The matrix of a connective tissue is destroyed. The enhancement of the infiltration to the tissue of the cell of an inflammation type and the permeability of the blood vessel is carried out. It is known that possibility of being interposed between the process of the histamine liberation from the mast cell in type I allergy is high.

Therefore, a hyaluronidase inhibitory activity participates in a maintenance of the hyaluronic acid level in a living body. Also anti-inflammation and an antiallergic activity show a high correlation.

The hyaluronidase inhibitory activity is actually observed to many, such as indometacin which is the anti-inflammable_agent developed until now and an antiallergic agent, aspirin, a disodium cromoglycate, and a tranilast.

[0005]

It has the hyaluronidase inhibitory activity which excelled from the above-mentioned.

And in case of application on human bodies, such as the skin, it had a high safety. Development of the hyaluronidase inhibitor of an above is anticipated.

[0006]**[PROBLEM ADDRESSED]**

This invention aims at providing the hyaluronidase inhibitor which has the outstanding hyaluronidase inhibitory activity and

一ゼ阻害活性を有し、しかも安全性に優れたヒアルロニダーゼ阻害剤を提供することを目的とする。

moreover excelled in safety.

【0007】

[0007]

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記課題を解決すべく、種々の天然物、特に植物抽出物を対象として検討を行った。既に陸上植物については、飲用に供されている茶から抽出される茶ポリフェノール類（特開平6-9391号）、生薬又は飲食物として使用されているチンピ、キジツ、羅漢果の抽出物（特開平6-80576号）、ブナ科の植物であるウラジロガシ抽出物（特開平6-239757号）、カシューナッツ殻油（特開平6-329526号）、ウルシ科植物抽出物（特開平7-10765号）等からヒアルロニダーゼ阻害活性等をもつ物質が見い出されているが、本発明者らは、新たなヒアルロニダーゼ阻害剤を開発すべく、鋭意スクリーニングを行った結果、以下に示す海藻類の抽出物に目的のヒアルロニダーゼ阻害活性を見出し、本発明を完成するに至ったのである。

【0008】

すなわち、本発明のヒアルロニダーゼ阻害剤は、緑藻類のヒトエグサ属、アオサ属、アオノリ属、ハネモ属、イワツタ属、ミル属、褐藻類のマツモ属、オキナワモズク属、モズク属、カジ

[SOLUTION OF THE INVENTION]

The present inventors examined by making objective various natural product, especially a plant extract that an above subject should be solved.

About an land plant, the substance which has a hyaluronidase inhibitory activity from the tea polyphenols extracted from the tea currently used for by drinking (Unexamined Japanese Patent 6- 9391), the citrus unshiu peel currently used as the galenicals or food and drink, an Aurantii immaturi Fructus, the extract of a momordicae fructus (Unexamined Japanese Patent 6- 80576), the Quercus salicina extract which is a plant of a Fagaceae (Unexamined Japanese Patent 6- 239757), Cashew nut shell oil (Unexamined Japanese Patent 6- 329526), Anacardiaceae plant extract (Unexamined Japanese Patent 7- 10765) is found out.

However, the present inventors performed the screening earnestly that a new hyaluronidase inhibitor should be developed. A target hyaluronidase inhibitory activity is found out in the extract of sea weed shown below as a result.

It came to complete this invention.

[0008]

Namely, the hyaluronidase inhibitor of this invention contains the extract of the sea weed belonging to The Monostroma genus of a Chlorophyceae, a Ulva genus, an Enteromorpha, a Bryopsis genus, a Caulerpa genus, a Codium genus, the Heterochordaria genus of a Phaeophyceae, a Cladosiphon genus, a

メ属、レッスンニア属、マクロシステイス属、ヒバマタ属、アスコフィラム属、ダービリア属、紅藻類のアマノリ属、マクサ属、ヒラクサ属、オバクサ属、フノリ属、キリンサイ属、スギノリ属、Iridaea属、ツノマタ属、ダルス属、イギス属に属する海藻の抽出物を有効成分として含有することを特徴とする。

Nemacystus genus, an Ecklonia genus, a Lessonia genus, a Macrocystis genus, the Fucus, an Ascophyllum genus, a Durvillea genus, the Porphyra of a Rhodophyceae, a Gelidium amansii genus, a Gelidium subcostatum genus, a Pterocladia, a Gloiopeltis genus, an Eucheuma, a Gigartina, Iridaea genus, a chondrus ocellatus (red algae) genus, a Rhodymenia genus, a Ceramium genus as an active ingredient.

It is characterized by the above-mentioned.

【0009】

[0009]

【作用】

本発明の海藻抽出物が、皮膚等に対して優れた老化防止効果等を発揮する機構については、抽出物中に含まれるヒアルロニダーゼ阻害活性物質が、皮膚細胞におけるヒアルロン酸の分解を抑制、そのレベルを維持することにより、皮膚の保湿性、柔軟性、弾力性の低下を抑え、顕著な皮膚老化防止効果等を示すものと推測される。また、その優れたヒアルロニダーゼ阻害活性により、ヒアルロニダーゼに起因する炎症やアレルギーの予防、治療に有効となる。

[EFFECT]

About the mechanism that the sea weed extract of this invention demonstrates the excellent ageing preventing effect to the skin etc., the hyaluronidase inhibitory activity substance contained in an extract suppresses decomposition of the hyaluronic acid in a skin cell, and maintains the level. A reduction of the moisture retention of the skin, softness, and springiness is restrained, and remarkable skin ageing-preventive effect etc. is shown. It assumes as mentioned above.

Moreover, it becomes prevention of the inflammation resulting from a hyaluronidase, or allergy, and a treatment with effectiveness by the excellent hyaluronidase inhibitory activity.

【0010】

以下に、本発明の内容を詳細に説明する。本発明に用いられる海藻としては、例えば、緑藻類の、ヒトエグサ属ではヒトエグサ (Monostroma nitidum)、アオサ属ではアナアオサ (Ulva pertusa)、オオアオサ (Ulva sublittoralis)、アオノリ属ではスジアオノリ

[0010]

Below, the content of this invention is explained in detail.

As the sea weed used for this invention, For example, in the Monostroma genus of a Chlorophyceae, Monostroma nitidum (Monostroma nitidum), in a Ulva genus A Ulva pertusa (Ulva pertusa), Ulva sublittoralis, at an Enteromorpha, it is an Enteromorpha prolifera (Enteromorpha prolifera). at a Bryopsis genus, it is a Bryopsis plumosa (Bryopsis plumosa). at a Caulerpa genus, it is a Caulerpa lentillifera

(Enteromorpha prolifera)、ハネモ属ではハネモ (*Bryopsis plumosa*)、イワツタ属では、クビレツタ (*Caulerpa lentillifera*)、ミル属ではミル (*Codium fragile*)、褐藻類の、マツモ属ではマツモ (*Analipus japonicus*)、オキナワモズク属ではオキナワモズク (*Cladosiphon okamuranus*)、モズク属ではモズク (*Nemacystis decipiens*)、カジメ属ではカジメ (*Ecklonia cava*)、*Ecklonia maxima*、レソニア属では *Lessonia nigrescens*、マクロシステイス属ではジャイアントケルプ (*Macrocystis pyrifera*)、ヒバマタ属ではヒバマタ (*Fucus evanescens*)、アスコフィラム属では *Ascophyllum nodosum*、ダービリア属では *Durvillea antarctica*、紅藻類の、アマノリ属ではアサクサノリ (*Porphyra tenera*)、スサビノリ (*Porphyra yezoensis*)、マクサ属ではマクサ (*Gelidium amansii*)、ヒラクサ属ではヒラクサ (*Beckerella subcostata*)、オバクサ属では *Pterocladia tenuis*、フノリ属ではフクロフノリ (*Gloiopeltis furcata*)、マフノリ (*Gloiopeltis tenax*)、キリンサイ属では *Eucheuma cottonii*、*Eucheuma spinosum*、スギノリ属では *Gigartina chamissoi*、*Iridaea* 属では *Iridaea pulchra*、エゾツノマタ (別名クロハギンナンソウ) (*Iridaea cornucopiae*)、ツノマタ属ではトチャカ (*Chondrus crispus*) ツノマタ (*Chondrus ocellatus*)、ダルス属ではダル

(*Caulerpa lentillifera*).

At a *Codium* genus, it is a mill (*Codium fragile*). at the *Heterochordaria* genus of a *Phaeophyceae*, a *Heterochordaria abietina* (*Analipus japonicus*), at a *Cladosiphon* genus, an Okinawa mozuku seaweed (*Cladosiphon okamuranus*), at a *Nemacystus* genus, a Mozuku seaweed (*Nemacystus decipiens*) (*Nemacystis decipiens*), at an *Ecklonia* genus, an *Ecklonia cava* (*Ecklonia cava*) and *Ecklonia maxima*, at a *Lessonia* genus, *Lessonia nigrescens*, at a *Macrocystis* genus, giant kelp (*Macrocystis pyrifera*), at the *Fucus*, a *Fucus evanescens* (*Fucus evanescens*), at an *Ascophyllum* genus, *Ascophyllum nodosum*.

At a *Durvillea* genus, *Durvillea antarctica*, at the *Porphyra* of a *Rhodophyceae*, a *Porphyra tenera* (*Porphyra tenera*), *Porphyra yezoensis* (*Porphyra yezoensis*), at a *Gelidium amansii* genus, a *Gelidium amansii* (*Gelidium amansii*), at a *Gelidium subcostatum* genus, a *Gelidium subcostatum* (*Beckerella subcostata*), at a *Pterocladia*, *Pterocladia tenuis*, at a *Gloiopeltis* genus, a *Gloiopeltis furcata* (*Gloiopeltis furcata*), *Gloiopeltis tenax* (*Gloiopeltis tenax*), at an *Eucheuma*, *Eucheuma cottonii*, *Eucheuma spinosum*, at a *Gigartina*, *Gigartina chamissoi*, at *Iridaea* genus, *Iridaea pulchra*, *Chondrus yendoii* (another name *Iridaea cornucopiae*) (*Iridaea cornucopiae*), at a *chondrus ocellatus* (red algae) genus, *Chondrus ocellatus* f. *crispus* (*Chondrus crispus*) *chondrus ocellatus* (red algae) (*Chondrus ocellatus*), at a *Rhodymenia* genus, a *Rhodymenia palmata* (*Rhodymenia palmata*), A *Ceramium boydenii* (*Ceramium boydenii*) at a *Ceramium* genus can be mentioned.

ス (*Rhodymenia palmata*)、イギス属ではアミクサ (*Ceramium boydenii*) などを挙げることができる。

[0011]

本発明物質を抽出する方法は、特に制限はなく、通常の抽出法が採用され、水、親水性有機溶媒、その他の有機溶媒等よりなる群から選ばれる単独あるいは2種以上の任意の混合溶剤を使用して海藻から抽出される。有機溶媒としては、例えば、メタノール、エタノール、イソプロパノール、*n*-ブタノール、1,3-ブチレングリコール、プロピレングリコール、酢酸エチル、アセトン、メチルエチルケトン、アセトニトリル、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、クロロホルム、*n*-ヘキサン、ベンゼン等が挙げられる。これらの中でも、特に、水または水とメタノール、エタノール、イソプロパノール等の低級アルコールとの混合物を用いて抽出することが好ましい。この場合の水と低級アルコールの比率は、水/低級アルコールが10/0~30/70 (V/V、体積比)であることが好ましい。海藻原体と抽出溶媒との比率は、海藻原体(乾燥物)/溶媒比が1/50~1/2の範囲が好ましい。その他の抽出条件としては、抽出温度は特に制限はないが、好ましくは5~80℃の範囲で、1~24時間、攪拌しながら行うのが好ましい。抽出pHは、極端な酸性、極端なアルカリ性に傾かなければ、特

[0011]

Particularly limitation does not have a method of extracting this invention substance. A usual extraction method is adopted. It is selected out of the group which consists of water, hydrophilic organic solvent, and other organic solvent etc. It is used alone, or 2 or more sorts of arbitrary mixed solvent is used.

As an organic solvent, for example, methanol, an ethanol, an isopropanol, *n*-butanol, 1,3-butylene glycol, a propylene glycol, an ethyl acetate, acetone, methyl ethyl ketone, acetonitrile, a dimethyl sulfoxide, a dimethylformamide, chloroform, *n*-hexane, benzene, etc. are mentioned.

Among these, It is preferable to extract particularly using water or the mixture of water and lower alcohols, such as methanol, ethanol, and isopropanol.

As for water in this case, and the ratio of a lower alcohol, it is preferable that water/lower alcohol is 100/0-30/70 (V/V, volume ratio).

As for the ratio of a sea weed raw material and an extracting solvent, A sea weed raw material (dried product) / solvent ratio is in the range of 1/50 - 1/2 preferably.

As the other extraction condition, particularly limitation does not have extraction temperature.

However, in the range of 5 - 80 degrees-Celsius, it is preferable. to conduct for one to 24 hours, stirring.

Particularly extraction pH is limited if it does not incline to extreme acid and extreme alkalinity.

に制限はない。

【0012】

この抽出液は、そのまま用いても、あるいは希釈液としたり、濃縮エキスとしてもよく、また凍結乾燥などにより乾燥粉末物としたり、ペースト状に調製してもよい。乾燥粉末に調製した場合には、水または水を含むメタノール、エタノール、イソプロパノール等の低級アルコールに予め溶解して用いるか、あるいは後述の水を含む外用組成物中で可溶化して用いるのが好ましい。

【0013】

本発明のヒアルロニダーゼ阻害剤の剤型としては、例えば、錠剤、カプセル剤、散剤、内服液、細粒剤等の内服剤とすることができ、また、リニメント剤、スプレー剤、ローション剤、軟膏等の外皮用とすることができる。皮膚外用剤として用いる場合には、必須成分である海藻抽出物を任意の濃度で配合できるが、通常、各種皮膚外用剤中に0.01～30重量%（以下、単に「%」という。）、好ましくは0.1～10%配合させるのがよい。

【0014】

本発明の必須成分である海藻抽出物を配合した皮膚外用剤には、上記必須成分の他に、通常外用剤に用いられる原料、例えば、界面活性剤、油分、アルコール類、保湿剤、増粘剤、防腐剤、酸化防止剤、キレート剤、

[0012]

This extract may be used as it is. Or it may use as dilution liquid.

It is good also as concentration extract. Moreover it is made into dry powder by lyophilization and it may prepare it in the shape of a paste.

When preparing to dry powder, it dissolves in water or lower alcohols, such as methanol containing, an ethanol, and an isopropanol including water, previously, and uses.

Or it is preferable to solubilize in the external composition containing water below-mentioned.

[0013]

As the formulation of the hyaluronidase inhibitor of this invention, for example, it can make internal use agents, such as a tablet, a capsule, a powder, an internal use liquid, and a fine granule. Moreover, it can use for outer layers, such as the liniment, the spray agent, the lotion, and the salve.

When using as skin external preparation, the sea weed extract which is an essential component can be blended by arbitrary concentration.

However, it is good to make it blend 0.01 to 30weight% (only henceforth "%"), preferably 0.1-10% in various skin external preparations usually.

[0014]

In skin external preparation which blended the sea weed extract which is the essential component of this invention, may blend an above essential component, and also the raw material usually used for external preparation, for example, a surfactant, an oil component, alcohols, a moisturizer, a thickener, preservative, antioxidant, a chelating agent, pH

pH調整剤、香料、色素、紫外線吸収・散乱剤、ビタミン類、アミノ酸類、水等を配合することができる。

【0015】

具体的には、界面活性剤としては、親油型グリセリンモノステアレート、自己乳化型グリセリンモノステアレート、ポリグリセリンモノステアレート、ソルビタンモノオレート、ポリエチレングリコールモノステアレート、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレート、ポリオキシエチレンセチルエーテル、ポリオキシエチレン化ステロール、ポリオキシエチレン化ラノリン、ポリオキシエチレン化蜜ロウ、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油等のノニオン界面活性剤、ステアリン酸ナトリウム、パルミチン酸カリウム、セチル硫酸ナトリウム、ラウリルリン酸ナトリウム、パルミチン酸トリエタノールアミン、ポリオキシエチレンラウリルリン酸ナトリウム、N-アシルグルタミン酸ナトリウム等のアニオン界面活性剤、塩化ステアリルジメチルベンジルアンモニウム、塩化ステアリルトリメチルアンモニウム等のカチオン界面活性剤、塩酸アルキルアミノエチルグリシン液、レシチン等の両性界面活性剤等を例示することができる。

【0016】

油分としては、ヒマシ油、オリブ油、カカオ油、椿油、ヤシ油、木ロウ、ホホバ油、グレー

regulator, a fragrance, the dye, a ultraviolet absorption * scattering agent, vitamins, amino acids, water, etc.

[0015]

Specifically, as a surfactant, nonionic surface active agents, such as a lipophilic glycerol mono stearate, an self-emulsifying glycerol mono stearate, a polyglycerol mono stearate, sorbitan mono-olate, a polyethyleneglycol mono stearate, polyoxyethylene sorbitan mono-olate, polyoxyethylene cetyl ether, Polyoxyethylene-ized sterol, polyoxyethylene-ized lanolin, a polyoxyethylene-ized yellow bees wax and the polyoxyethylene hydrogenated castor oil, anionic surfactants, such as sodium stearate, palmitic acid potassium, cetyl sodium sulfate, lauryl sodium phosphate, a palmitic acid triethanolamine, the polyoxyethylene lauryl sodium phosphate, N-acyl sodium glutamate, cationic surfactants, such as a stearyl chloride dimethylbenzyl ammonium and a stearyl chloride trimethyl ammonium, amphoteric surfactants, such as a hydrochloric acid alkyl amino ethyl glycine liquid and lecithin, etc. can be illustrated.

[0016]

As an oil component vegetable oil and fats, such as a castor oil, olive oil, cacao oil, camellia oil, palm tree oil, a Japan tallow, a jojoba oil,

プシード油、アボガド油等の植物油脂類、ミンク油、卵黄油等の動物油脂類、蜜ロウ、鯨ロウ、ラノリン、カルナウバロウ、キャンデリラロウ等のロウ類、流動パラフィン、スクワラン、マイクロクリスタリンワックス、セレシンワックス、パラフィンワックス、ワセリン等の炭化水素類、ラウリン酸、ミリスチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、イソステアリン酸、ベヘニン酸等の天然および合成脂肪酸類、セタノール、ステアリルアルコール、ヘキシルデカノール、オクチルドデカノール、ラウリルアルコール等の天然および合成高級アルコール類、ミリスチン酸イソプロピル、パルミチン酸イソプロピル、ミリスチン酸オクチルドデシル、オレイン酸オクチルドデシル、コレステロールオレート等のエステル類等を例示することができる。

【0017】

保湿剤としては、グリセリン、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール、ソルビトール、ポリグリセリン、ポリエチレングリコール、ジプロピレングリコール等の多価アルコール類、アミノ酸、乳酸ナトリウム、ピロリドンカルボン酸ナトリウム等のNMF成分、ヒアルロン酸、コラーゲン、ムコ多糖類、コンドロイチン硫酸等の水溶性高分子物質等を例示することができる。

【0018】

増粘剤としては、アルギン酸ナ

grape seed oil, and avocado oil, animal fat and oils, such as mink oil and egg yolk oil waxes, such as a yellow bees wax, a spermaceti wax, lanolin, a carnauba wax, and candelilla wax, hydrocarbons, such as a liquid paraffin, squalane, a micro crystalline wax, a cerecin wax, a paraffine wax, and vaseline nature and synthetic fatty acids, such as lauric acid, myristic acid, a stearic acid, an oleic acid, an iso stearic acid, and a behenic acid, nature and synthetic higher alcohols, such as a cetanol, a stearyl alcohol, a hexyl decanol, an octyl dodecanol, and lauryl alcohol, ester, such as an isopropyl myristate, an isopropyl palmitate, a myristic acid octyl dodecyl, an oleic acid octyl dodecyl, and a cholesterol olate, can be illustrated.

[0017]

As a moisturizer, polyhydric alcohols, such as glycerol, a propylene glycol, 1,3- butylene glycol, sorbitol, a polyglycerol, polyethyleneglycol, and a dipropylene glycol, NMF components, such as an amino acid, a sodium lactate, and a sodium pyrrolidone carboxylate, and water-soluble polymeric materials, such as hyaluronic acid, a collagen, the mucopolysaccharide, and a chondroitin sulfate, etc. can be illustrated.

[0018]

As a thickener, naturally occurring polymers

トリウム、キサントガム、珪酸アルミニウム、マルメロ種子抽出物、トラガントガム、デンプン等の天然高分子物質、メチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、可溶性デンプン、カチオン化セルロース等の半合成高分子物質、カルボキシビニルポリマー、ポリビニルアルコール等の合成高分子物質等を例示することができる。

【0019】

防腐剤としては、安息香酸塩、サリチル酸塩、ソルビン酸塩、デヒドロ酢酸塩、パラオキシ安息香酸エステル、2, 4, 4'-トリクロロ-2'-ヒドロキシジフェニルエーテル、3, 4, 4'-トリクロロカルバニリド、塩化ベンザルコニウム、ヒノキチオール、レゾルシン、エタノール等を例示することができる。

【0020】

酸化防止剤としては、ジブチルヒドロキシトルエン、ブチルヒドロキシアニソール、没食子酸プロピル、アスコルビン酸等を、キレート剤としては、エデト酸二ナトリウム、エチレンジアミン四酢酸塩、ピロリン酸塩、ヘキサメタリン酸塩、クエン酸、酒石酸、グルコン酸等を、pH調整剤としては、水酸化ナトリウム、トリエタノールアミン、クエン酸、クエン酸ナトリウム、ホウ酸、ホウ砂、リン酸水素カリウム等をそれぞれ例示することができる。

substances, such as a sodium alginate, a xanthan gum, a silicate aluminium, a quince seed extract, a tragacanth gum, and a starch, semisynthesis polymeric materials, such as a methyl cellulose, a hydroxyethyl cellulose, carboxymethylcellulose, a soluble starch, and a cationized cellulose, synthetic polymeric materials, such as a carboxy vinyl polymer and polyvinyl alcohol, etc. can be illustrated.

[0019]

As preservative, benzoate, a salicyte, a sorbic acid salt, dehydro acetate, paraoxy benzoate, 2,4,4'-trichloro- 2'- hydroxy diphenylether, 3,4,4'-trichlorocarbanilide, a benzalkonium chloride, a hinokitiol, a resorcinol, an ethanol, etc. can be illustrated.

[0020]

As antioxidant, dibutyl hydroxy toluene, butyl hydroxyanisole, a propyl gallate, an ascorbic acid, etc. can be illustrated. As a chelating agent, the disodium edetate, an ethylenediaminetetraacetic acid salt, a pyrophosphate, hexa metaphosphate, a citric acid, tartaric acid, gluconic acid, etc. can be illustrated. As a pH regulator, sodium hydroxide, a triethanolamine, a citric acid, sodium citrate, a boric acid, borax, a potassium hydrogen phosphate, etc. can respectively be illustrated.

【0021】

紫外線吸収・散乱剤としては、2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン、オクチルジメチルパラアミノベンゾエート、エチルヘキシルパラメトキシサイナメート、酸化チタン、カオリン、タルク等を例示することができる。ビタミン類としては、ビタミンA、ビタミンB、ビタミンC、ビタミンD、ビタミンE、ビタミンF、ビタミンK、ビタミンP、ビタミンU、カルニチン、フェルラ酸、γ-オリザノール、α-リポ酸、オロツト酸およびそれらの誘導体等を例示することができる。アミノ酸類としては、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、セリン、トレオニン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、シスチン、システイン、メチオニン、プロリン、ヒドロキシプロリン、アスパラギン酸、グルタミン酸、アルギニン、ヒスチジン、リジンおよびそれらの誘導体等を例示することができる。

【0022】

なお、任意成分は、これらに限定されるものではない。上記必須成分と任意成分を適当に配合することにより、例えば、本発明の海藻抽出物0.01~30%、任意成分として油分0~80%、界面活性剤0~12%、保湿剤1~15%、精製水バランス、防腐剤微量を含有する皮膚外用剤を提供することができる。具体的には、クリーム、乳

[0021]

As a ultraviolet absorption * scattering agent, 2-hydroxy- 4- methoxy benzophenone, an octyl dimethyl para amino benzoate, ethylhexyl para methoxy cinnamate, a titanium oxide, kaoline, a talc, etc. can be illustrated.

As vitamins, a vitamin A, the vitamin B, the vitamin C, a vitamin D, the vitamin E, the vitamin F, a vitamin K, the vitamin P, the vitamin U, a carnitine, a ferulic acid, (gamma)- orizanol, (alpha)- lipoic acid, oroticacids, those derivatives, etc. can be illustrated.

As amino acids, a glycine, an alanine, valine, a leucine, isoleucine, serine, threonine, phenylalanine, a tyrosine, tryptophan, cystine, cysteine, methionine, a proline, hydroxyproline, aspartic acid, glutamic acid, arginine, histidine, lysines, their derivatives, etc. can be illustrated.

[0022]

In addition, an arbitrary component is not limited to these.

An above essential component and an arbitrary component are blended suitably. For example, skin external preparation which contains 0.01-30% of the sea weed extracts of this invention, 0-80% of oil components as an arbitrary component, 0-12% of surfactant, 1-15% of moisturizer, purified water balance, and an preservative trace can be provided.

Specifically, it can use as product forms, such as cream, a milky lotion, a skin_lotion, an essence, a pack agent, a under makeup,

液、化粧水、美容液、パック剤、アンダーメイクアップ、ファンデーション、ゼリー剤、軟膏等の製品形態として用いることができる。

foundation, a jelly agent, and the salve.

【0023】

本発明のヒアルロニダーゼ阻害剤を皮膚化粧料として用いる場合の具体例を示すと以下の(1)～(4)の通りである。

(1) 皮膚用クリームの場合

本発明の海藻抽出物 0.1～10%、油分 20～70%、界面活性剤 2～7%、保湿剤 1～10%、精製水バランス、防腐剤微量、香料微量を含有する皮膚用クリーム。

[0023]

When the example in the case of using the hyaluronidase inhibitor of this invention as skin cosmetics is shown, it is as following (1)-(4).

(1) In the case of cream for the skins Cream for the skins containing 0.1-10% of the sea weed extracts of this invention, 20-70% of oil components, 2-7% of surfactants, 1-10% of moisturizers, Purified water balance, Preservative trace amount, Fragrance trace.

【0024】

(2) 乳液の場合

本発明の海藻抽出物 0.1～10%、油分 10～40%、アルコール類 0～15%、界面活性剤 1～5%、保湿剤 1～10%、増粘剤 0～2%、精製水バランス、防腐剤微量、香料微量を含有する乳液。

[0024]

(2) In the case of a milky lotion

The milky lotion containing 0.1-10% of the sea weed extracts of this invention, 10-40% of oil components, 0-15% of alcohols 1-5% of surfactants, 1-10% of moisturizers, 0-2% of thickeners, Purified water balance, Preservative trace amount, Fragrance trace.

【0025】

(3) 化粧水、美容液の場合

本発明の海藻抽出物 0.1～10%、アルコール類 5～20%、界面活性剤 0～2%、保湿剤 2～8%、増粘剤 0～2%、酸化防止剤 0～0.5%、キレート剤 0～0.1%、pH調整剤 0～0.2%、精製水バランス、防腐剤微量、色素 0～微量、香料微量を含有する化粧水、美容液。

[0025]

(3) In the case of a skin_lotion and an essence The skin_lotion, and an essence containing 0.1-10% of the sea weed extracts of this invention, 5-20% of alcohols 0-2% of surfactants, 2-8% of moisturizers, 0-2% of thickeners, 0-0.5% of antioxidant, 0-0.1% of chelating agents, 0-0.2% of pH regulators, Purified water balance, Preservative trace amount, the dye 0 - trace amount, Fragrance trace.

【0026】

(4) パック剤の場合

本発明の海藻抽出物 0.1~10%、アルコール類 2~10%、保湿剤 2~10%、無機粉体 0~20%、造膜剤 10~20%、精製水バランス、防腐剤微量、香料微量を含有するパック剤。

【0027】

【実施例】

次に、実施例、試験例等により本発明を具体的に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

【0028】

製造例（海藻抽出物の製造）

マツモの乾燥物 100g を 20 倍量の水にて 3 時間攪拌し、その上澄みを濃縮および凍結乾燥することにより、マツモ抽出物 16g を得た。また、同様にし、マツモ以外の海藻、すなわち、緑藻類のヒトエグサ、アナアオサ、オオアオサ、スジアオノリ、ハネモ、クビレツタ、ミル、ホソジュズモ、褐藻類のオキナワモズク、モズク、カジメ、Ecklonia maxima、ジャイアントケルプ、Lessonia nigrescens、ヒバマタ、Ascophyllum nodosum、Durvillea antarctica、シオミドロ、紅藻類のオゴノリ、アサクサノリ、スサビノリ、マクサ、ヒラクサ、Pterocladia tenuis、フクロフノリ、マフノリ、Euclima cottonii、Euclima spinosum、Gigartina chamissoi、Iridaea pulchra、エ

[0026]

(4) In the case of a pack agent

The pack agent containing 0.1-10% of the sea weed extracts of this invention, 2-10% of alcohols 2-10% of moisturizers, 0-20% of inorganic fine particles, 10-20% of film forming agents, Purified water balance, Preservative trace amount, Fragrance trace.

[0027]

[Example]

Next, an Example, an EXPERIMENT, etc. specifically explain this invention.

However, this invention is not limited to the following Examples.

[0028]

Manufacture example (manufacture of a sea weed extract) 100g of the dried products of a Heterochordaria abietina is stirred for 3 hours with 20 -fold quantity water.

The supernatant liquid is carried out concentration and lyophilization. Then, 16g of Heterochordaria abietina extracts was obtained. Moreover, similarly, about sea weed except a Heterochordaria abietina, Namely, the Monostroma nitidum of a Chlorophyceae, a Ulva pertusa, Ulva sublittoralis, an Enteromorpha prolifera, a Bryopsis plumosa, a Caulerpa lentillifera, a mill, Chaetomorpha crassa, the Okinawa mozuku seaweed (Cladosiphon okamuranus) of a Phaeophyceae, a Mozuku seaweed (Nemacystus decipiens), an Ecklonia cava, Ecklonia maxima, giant kelp, Lessonia nigrescens, a Fucus evanescens, Ascophyllum nodosum, Durvillea antarctica, an Ecotocarpus, the Gracilaria verrucosa (Ceylon moss) of a Rhodophyceae, a Porphyra tenera, a Porphyra yezoensis, a Gelidium amansii, a Gelidium subcostatum, Pterocladia tenuis, a Gloiopeltis furcata, a Gloiopeltis tenax, Euclima cottonii, Euclima spinosum, Gigartina chamissoi, Iridaeapulchra, a Chodrus

ゾツノマタ、トチャカ、ツノマタ、ダルス、カギノリ、アミクサについて、夫々の抽出物を得た。さらに、他の溶媒、すなわち、メタノール、エタノール、イソプロパノール、*n*-ブタノール、1, 3-ブチレングリコール、プロピレングリコール、酢酸エチル、アセトン、メチルエチルケトン、アセトニトリル、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、クロロホルム、*n*-ヘキサン、ベンゼンについても、上記水と同様の方法で上記夫々の海藻類から抽出物を得た。

【0029】

試験例1 (ヒアルロニダーゼ阻害活性試験)

上記製造例で得た夫々の海藻抽出物 (エキス試料) のヒアルロニダーゼ阻害活性の測定は、以下の方法で行った。酵素 (type IV - S from Bovine testis, SIGMA 社製) 溶液 100 μ l (1,580 unit/ml) に上記製造例で得た夫々の海藻抽出エキス試料 200 μ l を加えて、37°C で20分間放置した。次に、酵素活性化剤 (Compound 48/80, SIGMA 社製) 溶液 (0.1mg/ml) 200 μ l を加え、37°C で20分間放置した後、基質であるヒアルロン酸カリウム (from rooster comb, 和光純薬社製) 溶液 (0.4mg/ml) 500 μ l を入れ、37°C で40分間放置した。次いで、0.4N 水酸化ナトリウム溶液 200 μ l を加えて反応を停止させた後、Morgan-Elson 法の変法 (J.

yendoi, a *Chondrus ocellatus* f. *crispus*, *chondrus ocellatus* (red algae), a *Rhodymenia palmata*, an *Asparagopsis hamifera*, a *Ceramium boydenii*, each extract was obtained.

Furthermore, about the other solvent, namely, methanol, an ethanol, an isopropanol, *n*-butanol, 1,3- butylene glycol, a propylene glycol, an ethyl acetate, acetone, methyl ethyl ketone, acetonitrile, a dimethyl sulfoxide, a dimethylformamide, chloroform, *n*-hexane, and benzene, the extract was obtained from each sea weed by the same method as water.

【0029】

EXPERIMENT 1 (examination of a hyaluronidase inhibitory activity)

The measurement of the hyaluronidase inhibitory activity of each sea weed extract (extract sample) obtained by the above manufacture example was done with the following method.

Each sea weed extraction extract sample 200 microliter obtained by the above manufacture example is added to enzyme solution 100 microliter (type IV-S from Bovine testis, made in SIGMA company) (1,580 unit/ml). 20 minutes was left by 37 degrees-Celsius.

Next, enzyme activator (Compound 48/80 and made in SIGMA company) solution (0.1 mg/ml) 200 microliter is added. After leaving 20 minutes by 37 degrees-Celsius, Hyaluronic acid potassium (from rooster comb, product made from Wako Purechemical KK) solution (0.4 mg/ml) 500 microliter which is a substrate is put.

It was left at 37 degrees-Celsius 40 minutes.

Subsequently, 0.4N sodium hydroxide solution 200 microliter is added. After stopping reaction, the amount of N-acetyl hexosamines produced by the modified method (J.Biol.Chem., 217,959 (1955)) of a Morgan-Elson method was calculated from absorbance

Biol. Chem.,217,959(1955)) で生成したN-アセチルヘキソサミン量を吸光度OD_{585nm} から求めた。また、酵素反応には0.1mM 酢酸緩衝液(pH3.5)を用い、ヒアルロニダーゼ阻害活性は次式より求められる阻害率で算出した。

OD585 nm.

Moreover, 0.1 mM acetic acid buffer (pH3.5) is used for an enzyme reaction. The hyaluronidase inhibitory activity was calculated by the inhibition rate which is calculated from the following formula.

【0030】

[0030]

【数1】

[Equation 1]

$$\text{阻害率} = \frac{\text{コントロールOD}_{585\text{nm}} - \text{試料OD}_{585\text{nm}}}{\text{コントロールOD}_{585\text{nm}}}$$

Inhibition rate = control – sample /control

【0031】

上記製造例で得た夫々の海藻類の水抽出物（エキス試料）について、種々試料濃度での阻害率から50%阻害濃度（IC₅₀）を算出した結果を下記表1に示す。数値が低い程、ヒアルロニダーゼ阻害活性が高いことを示す。

[0031]

About the water extract of each sea weed obtained by the above manufacture example (extract sample), the result which calculated the 50% inhibitory concentration (IC₅₀) from the inhibition rate in various sample concentration is shown in following Table 1.

This shows that the lower the numerical value is, the higher the hyaluronidase inhibitory activity is.

【0032】

[0032]

【表1】

[Table 1]

(ヒアルロニダーゼ阻害活性)

被 験 物 質		IC ₅₀ (μg/ml)
クロモグリク酸ナトリウム (対照)		13
緑藻類	ヒトエグサ抽出物	34
	アナアオサ抽出物	23
	オオアオサ抽出物	94
	スジアオノリ抽出物	29
	ハネモ抽出物	89
	クビレツタ抽出物	112
	ミル抽出物	73
ホソジュズモ抽出物		-
褐藻類	マツモ抽出物	85
	オキナワモズク抽出物	63
	モズク抽出物	107
	カジメ抽出物	77
	Ecklonia maxima抽出物	17
	ジャイアントケルプ抽出物	68
	Lessonia nigrescens抽出物	23
	ヒバマタ抽出物	59
	Ascophyllum nodosum抽出物	26
	Durvillea antarctica抽出物	11
	シオミドロ抽出物	-
紅藻類	オゴノリ抽出物	-
	アサクサノリ抽出物	139
	スサビノリ抽出物	150
	マクサ抽出物	94
	ヒラクサ抽出物	98
	Pterocladia tenuis抽出物	78
	フクロフノリ抽出物	35
	マフノリ抽出物	20
	Eucheuma cottonii抽出物	118
	Eucheuma spinosum抽出物	47
	Gigartina chamissoi抽出物	101
	Iridaea pulchra抽出物	10
	エゾツノマタ抽出物	12
	トチャカ抽出物	143
	ツノマタ抽出物	137
	ゲルス抽出物	112
	カギノリ抽出物	-
	アミクサ抽出物	66

[Table 1]

(Hyaluronidase inhibitory activity)

Test material, Disodium cromoglycate (comparison)

Chlorophyceae

Monostroma nitidum extract

Ulva pertusa extract

Ulva sublittoralis extract

Enteromorpha prolifera extract

Bryopsis plumosa extract

Caulerpa lentillifera extract

Mill extract
Chaetomorpha crassa extract
Brown algae
Heterochordaria abietina extract
Okinawa mozuku seaweed (Cladosiphon okamuranus) extract
Mozuku seaweed (Nemacytus decipiens) extract
Ecklonia cava extract
Ecklonia maxima extract
Giant kelp extract
Lessonia nigrescens extract
Fucus evanescens extract
Ascophyllum nodosum extract
Durvillea antarctica extract
Ecotocarpus extract
Rhodophyceae
Gracilaria verrucosa (Ceylon moss) extract
Porphyra tenera extract
Porphyra yezoensis extract
Gelidium amansii extract
Gelidium subcostatum extract
Pterocladia tenuis extract
Colpomenia sinuosa extract
Gloiopeltis tenax extract
Eucheuma cottonii extract
Eucheuma spinosum extract
Gigartina chamission extract
Iridaea pulchra extract
Chondrus yendoii extract
Chondrus ocellatus f. crispus extract
Chondrus ocellatus (red algae) extract
Rhodymenia palmata extract
Asparagopsis hamifera extract
Ceramium boydenii extract

【 0 0 3 3 】

[0033]

(表 1 の考察) 上記表 1 に示し (Device of Table 1). The result shown in

た結果から明らかなように、本発明の海藻抽出物、すなわち、緑藻類のヒトエグサ、アナアオサ、オオアオサ、スジアオノリ、ハネモ、クビレヅタ、ミル、褐藻類のマツモ、オキナワモズク、モズク、カジメ、*Ecklonia maxima*、ジャイアントケルプ、*Lessonia nigrescens*、ヒバマタ、*Ascophyllum nodosum*、*Durvillea antarctica*、紅藻類のアサクサノリ、スサビノリ、マクサ、ヒラクサ、*Pterocladia tenuis*、フクロフノリ、マフノリ、*Eucheuma cottonii*、*Eucheuma spinosum*、*Gigartina chamissoi*、*Iridaea pulchra*、エゾツノマタ、トチャカ、ツノマタ、ダルス、アミクサの各抽出物は、ヒアルロニダーゼ阻害活性が知られているクロモグリク酸ナトリウム（対照）に匹敵する非常に高いヒアルロニダーゼ阻害活性を示すものが多く認められた。また、他の抽出溶媒から得られた抽出物も、水抽出物とほぼ同様の結果を示した。特に、アオサ属のアナアオサ、カジメ属の*Ecklonia maxima*、レソソニア属の*Lessonia nigrescens*、アスコフィラム属の*Ascophyllum nodosum*、ダービリア属の*Durvillea antarctica*、フノリ属のマフノリ、*Iridaea*属の*Iridaea pulchra*、エゾツノマタは、ヒアルロニダーゼ阻害活性が著しく高いことが判明した。これに対し、同じ海藻抽出物であっても、本発明の範囲外となる海藻抽出物、すなわち、緑藻類のジュズモ属のホソジュズモ、褐藻類の

above Table 1 shows that the sea weed extract of this invention, namely, each extract of the *Monostroma nitidum* of a Chlorophyceae, a *Ulva pertusa*, *Ulva sublittoralis*, an *Enteromorpha prolifera*, a *Bryopsis plumosa*, a *Caulerpa lentillifera*, a mill, the *Heterochordaria abietina* of a Phaeophyceae, an Okinawa mozuku seaweed (*Cladosiphon okamuranus*), a Mozuku seaweed (*Nemacystus decipiens*), an *Ecklonia cava*, *Ecklonia maxima*, giant kelp, *Lessonia nigrescens*, a *Fucus evanescens*, *Ascophyllum nodosum*, *Durvillea antarctica*, the *Porphyra tenera* of a Rhodophyceae, a *Porphyra yezoensis*, a *Gelidium amansii*, a *Gelidium subcostatum*, *Pterocladia tenuis*, a *Gloiopeltis furcata*, a *Gloiopeltis tenax*, *Eucheuma cottonii*, *Eucheuma spinosum*, *Gigartina chamissoi*, *Iridaea pulchra*, a *Chondrus yendoii*, a *Chondrus ocellatus* f. *crispus*, *chondrus ocellatus* (red algae), a *Rhodymenia palmata*, a *Ceramium boydenii*, it shows the very high hyaluronidase inhibitory activity which is equal to the disodium cromoglycate (control) which is known for the hyaluronidase inhibitory activity. Many of this is observed.

Moreover, the extract obtained from the other extracting solvent, also showed the almost same result as a water extract.

Particularly as for the *Ulva pertusa* which is a *Ulva* genus, *Ecklonia maxima* of an *Ecklonia* genus, *Lessonia nigrescens* of a *Lessonia* genus, *Ascophyllum nodosum* of an *Ascophyllum* genus, *Durvillea antarctica* of a *Durvillea* genus, the *Gloiopeltis tenax* of a *Gloiopeltis* genus, *Iridaea pulchra* of *Iridaea* genus and a *Chondrus yendoii*, it turned out that hyaluronidase inhibitory activity is remarkably high.

On the other hand, even when it is the same sea weed extract, the sea weed extract which consists the outside of the range of this invention, namely, each extract of *Chaetomorpha crassa* of the *Nostoc* genus of a Chlorophyceae, the *Ecotocarpus* of the *Ectocarpus* of a Phaeophyceae, the *Gracilaria verrucosa* (Ceylon moss) of the *Gracilaria* of a Rhodophyceae, and the *Asparagopsis hamifera*

シオミドロ属のシオミドロ、紅藻類のオゴノリ属のオゴノリ、カギノリ属のカギノリの夫々の抽出物は、ヒアルロニダーゼ阻害活性を示さなかった。

of an *Asparagopsis hamifera* genus did not show the hyaluronidase inhibitory activity.

【0034】

実施例1、比較例1（クリーム
の製造）

下記表2に示す成分1～7および8～11を別々に混合溶解した後、成分8～11の溶液を撹拌しながら、ここに成分1～7の溶液を添加し乳化させた後、冷却しながら途中で成分12を加えて室温まで冷却し、下記表2に示すクリームを調製した。なお、表中の数字は、配合量（重量%）を示し、POE（20）は、ポリオキシエチレンとその付加モル数を示す（以下の実施例等においても同様）。また、比較例1は、成分8の本発明の海藻抽出物を配合しないでクリームを調製した場合である（以下の比較例2～4においても海藻抽出物を配合しないで調製したものである）。

【0035】

【表2】

[0034]

Example 1, Comparative Example 1 (production of cream)

After mix-dissolving separately the components 1-7 shown in the following table 2, 8-11, the solution of components 1-7 is added, while stirring the solution of components 8-11. A component 12 is added halfway, cooling, after making it emulsify. It cools to a room temperature.

Cream shown in the following table 2 was prepared.

In addition, the figure in a table shows a compounding quantity (weight %).

POE(20) shows polyoxyethylene and its addition number of moles (even in the following Examples, it is the same).

Moreover, Comparative Example 1 is the case where cream is prepared without blending the sea weed extract of this invention of a component 8. (It prepares without blending a sea weed extract also in following Comparative Example 2-4).

[0035]

[Table 2]

(クリーム組成)

配 合 成 分	実施例 1	比較例 1
1 流動パラフィン (#70)	5.0	5.0
2 スクワラン	14.0	14.0
3 セトステアarylアルコール	6.0	6.0
4 密ロウ	1.5	1.5
5 モノステアリン酸グリセリン	2.0	2.0
6 POE (20) ソルビタンモノラウレート	2.0	2.0
7 プロピルパラベン	0.1	0.1
8 海藻抽出物	0.3	—
9 ジグリセリン	5.0	5.0
10 メチルパラベン	0.2	0.2
11 精製水	バランス	バランス
12 香料	微量	微量

[Table 2]

(Cream composition)

Combination component

Example 1

Comparative

Example 1

- 1 Liquid paraffin
- 2 Squalane
- 3 Cetostearyl alcohol
- 4 Yellow wax
- 5 Glyceryl monostearate
- 6 POE(20) sorbitan mono-laurate
- 7 Propylparaben
- 8 Sea weed extract
- 9 Diglycerine
- 10 Methylparaben
- 11 Purified water
- 12 Fragrance

Balance

Balance

Trace amount

Trace amount

【0036】

実施例 2、比較例 2 (化粧水の製造)

下記表 3 に示す成分 1～6 を順次成分 7 に加えて溶解し、さらに成分 8 を加え下記表 3 に示す化粧水を調製した。

[0036]

Example 2, Comparative Example 2 (manufacture of a skin_lotion) The components 1-6 shown in the following table 3 are added to a component 7 in order, and are dissolved.

Furthermore a component 8 is added. The skin_lotion shown in the following table 3 was prepared.

【0037】

[0037]

【表 3】

[Table 3]

(化粧水組成)

配 合 成 分	実施例 2	比較例 2
1 海藻抽出物	0. 2	-
2 1,3-ブチレングリコール	3. 0	3. 0
3 クエン酸	0. 02	0. 02
4 クエン酸ナトリウム	0. 05	0. 05
5 エタノール	18. 0	18. 0
6 メチルパラベン	0. 1	0. 1
7 精製水	バランス	バランス
8 香料	微量	微量

(Skin_lotion composition)

Combination component

Example 2

Comparative

Example 2

- 1 Sea weed extract
- 2 1,3- butylene glycol
- 3 Citric acid
- 4 Sodium citrate
- 5 Ethanol
- 6 Methylparaben
- 7 Purified water
- 8 Fragrance

Balance

Balance

Trace amount

Trace amount

【0038】

実施例 3、比較例 3 (美容液の製造)

下記表 4 に示す成分 1～4 と成分 5～9 を別々に溶解後、混合して美容液を調製した。

[0038]

Example 3, Comparative Example 3 (manufacture of an essence) It mixes, after dissolving separately the components 1-4 and the components 5-9 which are shown in the following table 4. The essence was prepared.

【0039】

[0039]

【表 4】

[Table 4]

(美容液組成)

配 合 成 分	実施例 3	比較例 3
1 海藻抽出物	2. 0	—
2 グリセリン	3. 0	3. 0
3 カルボキシビニルポリマー (分子量100万～150万)	0. 5	0. 5
4 精製水	バランス	バランス
5 酢酸d1- α -トコフェロール	0. 1	0. 1
6 エタノール	10. 0	10. 0
7 POE (40) 硬化ヒマシ油	0. 5	0. 5
8 メチルパラベン	0. 1	0. 1
9 香料	微量	微量

(Essence composition)

Combination component

Example 3

Comparative

Example 3

1 Sea weed extract

2 Glycerol

3 Carboxy vinyl polymer

(Molecular weight 1,000,000 - 1,500,000)

4 Purified water

Balance

Balance

5 Acetic acid d1- α -tocopherol

6 Ethanol

7 POE (40) hydrogenated_castor_oil

8 Methylparaben

9 Fragrance

Trace amount

Trace amount

【0040】

実施例4、比較例4（乳液の製造）

下記表5に示す成分1～7を70℃で加熱溶解した。一方、成分8～13を70℃で加熱溶解し、前記油脂溶液（成分1～7）を添加し、乳化させた後、冷却しながら、途中で成分14を加えて室温まで冷却し、下記表5に示す乳液を調製した。

[0040]

Example 4, Comparative Example 4 (manufacture of a milky lotion) The components 1-7 shown in the following table 5 were heat-dissolved by 70 degrees-Celsius.

On the other hand, components 8-13 are heat-dissolved by 70 degrees-Celsius. The above-mentioned fats and oils solution (components 1-7) is added.

Cooling, after making it emulsify, a component 14 is added halfway and it cools to a room temperature. The milky lotion shown in the following table 5 was prepared.

【0041】

[0041]

【表 5】

[Table 5]

(乳液組成)

配 合 成 分	実施例 4	比較例 4
1 流動パラフィン (#70)	10.0	10.0
2 イソプロピルミリステート	1.5	1.5
3 グリセリンモノステアレート	0.5	0.5
4 ステアリン酸	2.0	2.0
5 POE(20)ステアシルエーテル	0.7	0.7
6 グリチルレチン酸	0.1	0.1
7 ブチルパラベン	0.1	0.1
8 海藻抽出物	0.1	—
9 グリセリン	2.0	2.0
10 カルボキシビニルポリマー (分子量100万～150万)	0.1	0.1
11 エタノール	10.0	10.0
12 メチルパラベン	0.1	0.1
13 精製水	バランス	バランス
14 香料	微量	微量

(Milky lotion composition)

Combination component

Example 4

Comparative

Example 4

- 1 Liquid paraffin
- 2 Isopropyl myristate
- 3 Glycerol mono stearate
- 4 Stearic acid
- 5 POE(20) stearyl ether
- 6 Glycyrrhetic acid
- 7 Butylparaben
- 8 Sea weed extract
- 9 Glycerol
- 10 Carboxy vinyl polymer

(Molecular weight 1,000,000 - 1,500,000)

- 11 Ethanol
- 12 Methylparaben
- 13 Purified water
- 14 Fragrance

Balance
Trace amount

Balance
Trace amount

【0042】

試験例2 (使用テスト評価結果)
上記製造例で得た各海藻の水抽出物を含む上記実施例1～4及び比較例1～4のクリーム、化粧水、美容液、乳液の有効性を下記の使用テストにより評価した。

(使用テスト) 女性(30～50才)5名づつに、1日2回(朝と夜)、連続3カ月間実施例1～4と比較例1～4をハーフ・フェイス法で左右顔面に別々に使用させた後、小皺(A)および質[艶(B)、潤い(C)]についてアンケート調査を行った。アンケート調査は、実施例(本発明品)が良い場合には○(改善効果あり)、実施例(本発明品)と比較例が変わらない場合には△、比較例が良い場合には×(改善効果なし)とした。これらの使用テストの結果を下記表6に示す。

【0043】

【表6】

[0042]

EXPERIMENT 2 (the usage test evaluation result) The following usage test evaluated effectiveness of cream, a skin_lotion, an essence, and a milky lotion of Examples 1-4 containing the water extract of each sea weed obtained by the above manufacture example, and Comparative Example 1-4.

(Usage test) To every five females (30-50 years old), twice a day (a morning and night), theree consecutive months, Examples 1-4 and Comparative Example 1-4 were made to use for their right and left faces by the half * face method. the questionnaire on small wrinkles (A) and quality [gloss (B), moisture (C)] was done.

As for the questionnaire, when an Example (this invention goods) is good, it was made CIRCLE (improvement effect). When an Example (this invention goods) and Comparative Example do not change, it was made TRIANGLE. When Comparative Example was good, it was made * (no improvement effect).

The result of these use tests is shown in the following table 6.

[0043]

[Table 6]

(使用テスト評価結果)

評価 被験物質		実施例1 比較例1 (クリーム)	実施例2 比較例2 (化粧水)	実施例3 比較例3 (美容液)	実施例4 比較例4 (乳液)
		A B C	A B C	A B C	A B C
緑藻類	ヒトエグサ抽出物	○ ○ ○			
	アナオサ抽出物		○ ○ ○		○ ○ ○
	オオアサ抽出物				
	スジアオノリ抽出物				○ ○ ○
	ハネモ抽出物	○ ○ ○			
	クビレツタ抽出物	○ ○ ○		○ ○ ○	
	ミル抽出物	○ ○ ○		× × ×	
褐藻類	マツモ抽出物		○ ○ ○		
	オキナワモズク抽出物				○ ○ ○
	モズク抽出物			○ ○ ○	
	カシメ抽出物		○ ○ ○		
	Ecklonia maxima抽出物	○ ○ ○			
	ジャイアントケルプ抽出物		○ ○ ○		
	Lessonia nigrescens抽出物			○ ○ ○	
	ヒバマタ抽出物	○ ○ ○			
	Ascophyllium nodosum抽出物				○ ○ ○
	Durvillea antarctica抽出物				○ ○ ○
紅藻類	シオミドロ抽出物			△ △ △	
	オゴノリ抽出物	× × ×		× × ×	
	アサクサノリ抽出物			○ ○ ○	
	スサビノリ抽出物		○ ○ ○		
	マクサ抽出物			○ ○ ○	
	ヒラクサ抽出物			○ ○ ○	
	Pterocladia tenuis抽出物		○ ○ ○		
	フクロフノリ抽出物				○ ○ ○
	マフノリ抽出物				○ ○ ○
	Eucheuna cottonii抽出物	○ ○ ○			
	Eucheuna spinosum抽出物		○ ○ ○		
	Gigartina canaliculata抽出物			○ ○ ○	
	Iridaea pulchra抽出物				○ ○ ○
	エンツノマタ抽出物	○ ○ ○			
	トチャカ抽出物			○ ○ ○	
	ツノマタ抽出物	○ ○ ○			
	ダルス抽出物			○ ○ ○	
	カギノリ抽出物			△ △ △	
	アミクサ抽出物				○ ○ ○

表中のAは小皿、Bは鉢、Cは甕を表し、また、空白部は未実施を表す。

(Use test evaluation result)

Test material	Evaluation	Example 1	Example 2	Example 4
Comparative Example 1		Comparative Example 2		Comparative Example 4

(Cream) (skin_lotion) (milky lotion)

Chlorophyceae

Monostroma nitidum extract

Ulva pertusa extract

Ulva sublittoralis extract

Enteromorpha prolifera extract

Bryopsis plumosa extract
Caulerpa lentillifera extract
Mill extract
"hosojuzumo2 extract
Brown algae
Heterochordaria abietina extract
Okinawa mozuku seaweed (Cladosiphon okamuranus) extract
Mozuku seaweed (Nemacystus decipiens) extract
Ecklonia cava extract
Ecklonia maxima extract
Giant kelp extract
Lessonia nigrescens extract
Fucus evanescens extract
Ascophyllum nodosum extract
Durvillea antarctica extract
Ecotocarpus extract
Rhodophyceae
Gracilaria verrucosa (Ceylon moss) extract
Porphyra tenera extract
Porphyra yezoensis extract
Gelidium amansii extract
Gelidium subcostatum extract
Pterocladia tenuis extract
Colpomenia sinuosa extract
Gloiopeltis tenax extract
Eucheuma cottonii extract
Eucheuma spinosum extract
Gigartina chamission extract
Iridaea pulchra extract
Chodrus yendoii extract
Chodrus ocellatus f. crispus extract
Chondrus ocellatus (red algae) extract
Rhodymenia palmata extract
Asparagopsis hamifera extract
Ceramium boydenii extract

A in a table is a small wrinkles. B is a gloss. C shows a moisture. Moreover a blank part means un-performing it.

【0044】

(表6の考察) 上記表6に示す結果から明らかなように、本発明範囲の海藻の抽出物を配合した製剤(実施例)〔クリーム、化粧水、美容液、乳液〕は、小皺(A)、艶(B)、潤い(C)の改善効果が認められた。この効果は、海藻抽出物中に含まれるヒアルロニダーゼ阻害活性物質が、皮膚細胞におけるヒアルロン酸の分解を抑制、そのレベルを維持することにより、皮膚の保湿性、柔軟性、弾力性の低下を抑え、顕著な皮膚細胞の賦活化及び皮膚老化防止効果等を図り、皺や肌荒れの発生を予防し、滑らかでしっとりとした若々しい肌を与えたものと推測される。一方、同じ海藻抽出物であっても、本発明範囲外となる海藻の抽出物、すなわち、緑藻類のジュズモ属のホソジュズモ、褐藻類のシオミドロ属のシオミドロ、紅藻類のオゴノリ属のオゴノリ、カギノリ属のカギノリの夫々の抽出物を配合した製剤(比較例)〔クリーム、化粧水、美容液、乳液〕は、小皺(A)、艶(B)、潤い(C)とも改善効果は認められなかった。

【0045】

【発明の効果】

本発明によれば、ヒアルロン酸分解抑制作用により、皮膚細胞

[0044]

(Device of Table 6) The result shown in the above table 6 shows that in the formulation which blended the extract of the sea weed of this invention range (Example) [cream, a skin_lotion, an essence, and a milky lotion], the improvement effect of small wrinkles (A), gloss (B), and moisture (C) was observed.

This effect is assumed that The hyaluronidase inhibitory activity substance contained in a sea weed extract suppresses decomposition of the hyaluronic acid in a skin cell. By maintaining the level, a reduction of the moisture retention of the skin, softness, and springiness is restrained. Activation, the skin ageing-preventive effect, etc. of a remarkable skin cell are intended. Generation of a wrinkles or rough skin is prevented.

The youthful skin which it was smooth and was carried out gently was given.

On the other hand, even when it is the same sea weed extract, in the formulation [cream, a skin_lotion, an essence, and a milky lotion] (Comparative Example) which blended the extract of sea weed which consists the outside of this invention range, namely, each extract of Chaetomorpha crassa of the Nostoc genus of a Chlorophyceae, the Ecotocarpus of the Ectocarpus of a Phaeophyceae, the Gracilaria verrucosa (Ceylon moss) of the Gracilaria of a Rhodophyceae, the Asparagopsis hamifera of an Asparagopsis hamifera genus, the improvement effect has not observed about small wrinkles (A), gloss (B), and moisture (C).

[0045]

[EFFECT OF THE INVENTION]

According to this invention, ageing prevention of the activated skin of a skin cell is achieved by

の賦活化、皮膚の老化防止が図られ、皺や肌荒れの発生を予防、滑らかでしっとりとした若々しい肌を与える効果が得られ、これを配合することにより、安全性の高い皮膚外用剤等に好適なヒアルロニダーゼ阻害剤が提供される。また、本発明のヒアルロニダーゼ阻害剤は、関節の湿潤性を保ち、関節の治療剤等としても利用でき、また、抗炎症、抗アレルギー剤としても有用である。さらに、本発明のヒアルロニダーゼ阻害剤は、古くから食用等に用いられる海藻類から抽出されるものであるため、人体への安全性が極めて高く、しかも、優れたヒアルロニダーゼ阻害活性を有することから医薬品、医薬部外品、化粧品等の各種用途に使用することができる。

the hyaluronic acid decomposition inhibitory effect.

Generation of a wrinkles or rough skin is prevented. It is smooth and the effect of giving the youthful skin carried out gently is obtained.

By blending this, the suitable hyaluronidase inhibitor for high safety skin external preparation etc. is provided.

Moreover, the hyaluronidase inhibitor of this invention maintains the wettability of a joint, and can utilize it also as a therapeutic agent of a joint etc. Moreover, it is useful also as the anti-inflammation and an antiallergic agent.

Furthermore, the hyaluronidase inhibitor of this invention is extracted from the sea weed used for edible etc. from old times. Therefore, the safety to a human body has the hyaluronidase inhibitory activity which it was very high and moreover excelled.

It can thus use various applications, such as a pharmaceutical, a quasi-drug, and cosmetics.

PTO 2002-3116

S.T.I.C. Translations Branch

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-67266

(43) 公開日 平成9年(1997)3月11日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 35/80	A E D		A 6 1 K 35/80	A E D Z
7/00			7/00	W
	A D A			A D A K
7/48			7/48	

審査請求 未請求 請求項の数 1 O L (全 10 頁)

(21) 出願番号 特願平8-154468

(22) 出願日 平成8年(1996)6月14日

(31) 優先権主張番号 特願平7-156448

(32) 優先日 平7(1995)6月22日

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 000006769

ライオン株式会社

東京都墨田区本所1丁目3番7号

(72) 発明者 江幡 真也

東京都墨田区本所一丁目3番7号 ライオン株式会社内

(72) 発明者 滝田 八広

東京都墨田区本所一丁目3番7号 ライオン株式会社内

(72) 発明者 宮原 恒雄

東京都墨田区本所一丁目3番7号 ライオン株式会社内

(74) 代理人 弁理士 藤本 博光 (外1名)

(54) 【発明の名称】 ヒアルロニダーゼ阻害剤

(57) 【要約】

【課題】 緑藻類のヒトエグサ属、アオサ属、アオノリ属、ハネモ属、イワヅタ属、ミル属、褐藻類のマツモ属、オキナワモズク属、モズク属、カジメ属、レソニア属、マクロシステイス属、ヒバマタ属、アスコフィラム属、ダーヒリア属、紅藻類のアマノリ属、マクサ属、ヒラクサ属、オバクサ属、フノリ属、キリンサイ属、スギノリ属、Iridaea属、ツノマタ属、ダルス属、イギス属に属する海藻の抽出物を有効成分として含有することを特徴とするヒアルロニダーゼ阻害剤。

【解決手段】 ヒアルロン酸分解抑制作用により、皮膚細胞の賦活化、皮膚の老化防止が図られ、皺や肌荒れの発生を予防、滑らかでしっとりとした若々しい肌を与える優れた効果を有し、これを皮膚等の外用剤に配合することにより、安全性の高い皮膚外用剤等に好適なヒアルロニダーゼ阻害剤が提供される。また、関節の湿潤性を保ち、関節の治療剤等として、更に、抗炎症、抗アレルギー剤としても有用であり、医薬品、医薬部外品、化粧品等の各種用途に使用することができる。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 緑藻類のヒトエグサ属、アオサ属、アオノリ属、ハネモ属、イワヅタ属、ミル属、褐藻類のマツモ属、オキナワモズク属、モズク属、カジメ属、レソニア属、マクロシステイス属、ヒバマタ属、アスコフィラム属、ダービリア属、紅藻類のアマノリ属、マクサ属、ヒラクサ属、オバクサ属、フノリ属、キリンサイ属、スギノリ属、Iridaea属、ツノマタ属、ダルス属、イギス属に属する海藻の抽出物を有効成分として含有することを特徴とするヒアルロニダーゼ阻害剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、優れたヒアルロニダーゼ阻害活性を有する、極めて安全性の高い海藻抽出物よりなるヒアルロニダーゼ阻害剤に関する。

【0002】

【従来の技術】ヒアルロニダーゼは、ヒアルロン酸の加水分解酵素であり、皮膚のほか動物組織に広く分布している。本酵素の基質となるヒアルロン酸は、皮膚、靱帯、関節液、眼の硝子体などの組織に多く存在するムコ多糖の一種であり、例えば、皮膚においては、細胞の保護、栄養の運搬、組織水分の保持、柔軟性の維持等に、また関節液として組織構造、機能の維持および潤滑性の保持等に、重要な役割を果たしている。

【0003】皮膚や関節における生体ヒアルロン酸量は、老化または病的状態により減少することが知られており、その結果、皮膚の乾燥、肌荒れ、ハリ、弾力性の低下、シミ、シワの増加、あるいは関節の湿潤性悪化による関節痛等を引き起こす。このような状態に対して、ヒアルロニダーゼ阻害剤は、ヒアルロン酸の分解を抑制することにより生体ヒアルロン酸量の維持に寄与すると考えられている。また、最近では、ヒアルロン酸を配合した化粧料の皮膚への塗布や関節へのヒアルロン酸の注入等の措置がとられているが、ヒアルロニダーゼ阻害剤は、これら外因性ヒアルロン酸の安定化にも利用することができる。

【0004】さらに、ヒアルロニダーゼは、炎症時に活性化され、結合組織のマトリックスを破壊し、炎症系の細胞の組織への浸潤、血管の透過性を亢進すること、I型アレルギーにおける肥満細胞からのヒスタミン遊離の過程に介在している可能性が高いことなどが知られている。従って、ヒアルロニダーゼ阻害活性は、生体中のヒアルロン酸レベルの維持に関与するだけでなく、抗炎症、抗アレルギー活性とも高い相関を示す。実際、これまでに開発された抗炎症剤、抗アレルギー剤であるインドメタシン、アスピリン、クロモグリク酸ナトリウム、トラニラストなど多くにヒアルロニダーゼ阻害活性が認められている。

【0005】以上のようなことから、優れたヒアルロニダーゼ阻害活性を有し、かつ皮膚等の人体への適用に際

2

し、高い安全性をもったヒアルロニダーゼ阻害剤の開発が期待されている。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、優れたヒアルロニダーゼ阻害活性を有し、しかも安全性に優れたヒアルロニダーゼ阻害剤を提供することを目的とする。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記課題を解決すべく、種々の天然物、特に植物抽出物を対象として検討を行った。既に陸上植物については、飲用に供されている茶から抽出される茶ポリフェノール類（特開平6-9391号）、生薬又は飲食物として使用されているチンピ、キジツ、羅漢果の抽出物（特開平6-80576号）、ブナ科の植物であるウラジログシ抽出物（特開平6-239757号）、カシューナッツ殻油（特開平6-329526号）、ウルシ科植物抽出物（特開平7-10765号）等からヒアルロニダーゼ阻害活性等をもつ物質が見い出されているが、本発明者らは、新たなヒアルロニダーゼ阻害剤を開発すべく、鋭意スクリーニングを行った結果、以下に示す海藻類の抽出物に目的のヒアルロニダーゼ阻害活性を見出し、本発明を完成するに至ったのである。

【0008】すなわち、本発明のヒアルロニダーゼ阻害剤は、緑藻類のヒトエグサ属、アオサ属、アオノリ属、ハネモ属、イワヅタ属、ミル属、褐藻類のマツモ属、オキナワモズク属、モズク属、カジメ属、レソニア属、マクロシステイス属、ヒバマタ属、アスコフィラム属、ダービリア属、紅藻類のアマノリ属、マクサ属、ヒラクサ属、オバクサ属、フノリ属、キリンサイ属、スギノリ属、Iridaea属、ツノマタ属、ダルス属、イギス属に属する海藻の抽出物を有効成分として含有することを特徴とする。

【0009】

【作用】本発明の海藻抽出物が、皮膚等に対して優れた老化防止効果等を発揮する機構については、抽出物中に含まれるヒアルロニダーゼ阻害活性物質が、皮膚細胞におけるヒアルロン酸の分解を抑制、そのレベルを維持することにより、皮膚の保湿性、柔軟性、弾力性の低下を抑え、顕著な皮膚老化防止効果等を示すものと推測される。また、その優れたヒアルロニダーゼ阻害活性により、ヒアルロニダーゼに起因する炎症やアレルギーの予防、治療に有効となる。

【0010】以下に、本発明の内容を詳細に説明する。本発明に用いられる海藻としては、例えば、緑藻類の、ヒトエグサ属ではヒトエグサ（*Monostroma nitidum*）、アオサ属ではアナアオサ（*Ulva pertusa*）、オオアオサ（*Ulva sublittoralis*）、アオノリ属ではスジアオノリ（*Enteromorpha prolifera*）、ハネモ属ではハネモ（*Bryopsis plumosa*）、イワヅタ属では、クビレヅタ（*Caule rpa lentillifera*）、ミル属ではミル（*Codium fragil*

e)、褐藻類の、マツモ属ではマツモ (*Analipus japonicus*)、オキナワモズク属ではオキナワモズク (*Cladosiphon okamuranus*)、モズク属ではモズク (*Nemacystis decipiens*)、カジメ属ではカジメ (*Ecklonia cava*)、*Ecklonia maxima*、レソニア属では *Lessonia nigrescens*、マクロシスティス属ではジャイアントケルプ (*Macrocystis pyrifera*)、ヒバマタ属ではヒバマタ (*Fucus evanescens*)、アスコフィラム属では *Ascophyllum nodosum*、ダービリア属では *Durvillea antarctica*、紅藻類の、アマノリ属ではアサクサノリ (*Porphyra tenera*)、スサビノリ (*Porphyra yezoensis*)、マクサ属ではマクサ (*Gelidium amansii*)、ヒラクサ属ではヒラクサ (*Beckerella subcostata*)、オバクサ属では *Pterocladia tenuis*、フノリ属ではフクロフノリ (*Gloiopeltis furcata*)、マフノリ (*Gloiopeltis tenax*)、キリンサイ属では *Eucheuma cottonii*、*Eucheuma spinosum*、スギノリ属では *Gigartina chamissoi*、*Iridaea* 属では *Iridaea pulchra*、エゾツノマタ (別名クロハギナンソウ) (*Iridaea cornucopiae*)、ツノマタ属ではトチャカ (*Chondrus crispus*) ツノマタ (*Chondrus ocellatus*)、ダルス属ではダルス (*Rhodomenia palmata*)、イギス属ではアミクサ (*Ceramium boydenii*) などを挙げる事ができる。

【0011】本発明物質を抽出する方法は、特に制限はなく、通常の抽出法が採用され、水、親水性有機溶媒、その他の有機溶媒等よりなる群から選ばれる単独あるいは2種以上の任意の混合溶剤を使用して海藻から抽出される。有機溶媒としては、例えば、メタノール、エタノール、イソプロパノール、*n*-ブタノール、1, 3-ブチレングリコール、プロピレングリコール、酢酸エチル、アセトン、メチルエチルケトン、アセトニトリル、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、クロロホルム、*n*-ヘキサン、ベンゼン等が挙げられる。これらの中でも、特に、水または水とメタノール、エタノール、イソプロパノール等の低級アルコールとの混合物を用いて抽出することが好ましい。この場合の水と低級アルコールの比率は、水/低級アルコールが100/0~30/70 (V/V、体積比) であることが好ましい。海藻原体と抽出溶媒との比率は、海藻原体 (乾燥物)/溶媒比が1/50~1/2の範囲が好ましい。その他の抽出条件としては、抽出温度は特に制限はないが、好ましくは5~80℃の範囲で、1~24時間、攪拌しながら行うのが好ましい。抽出pHは、極端な酸性、極端なアルカリ性に傾かなければ、特に制限はない。

【0012】この抽出液は、そのまま用いても、あるいは希釈液としたり、濃縮エキスとしてもよく、また凍結乾燥などにより乾燥粉末物としたり、ペースト状に調製してもよい。乾燥粉末に調製した場合には、水または水を含むメタノール、エタノール、イソプロパノール等の低級アルコールに予め溶解して用いるか、あるいは後述

の水を含む外用組成物中で可溶化して用いるのが好ましい。

【0013】本発明のヒアルロニダーゼ阻害剤の剤型としては、例えば、錠剤、カプセル剤、散剤、内服液、細粒剤等の内服剤とすることができ、また、リニメント剤、スプレー剤、ローション剤、軟膏等の外皮用とすることができる。皮膚外用剤として用いる場合には、必須成分である海藻抽出物を任意の濃度で配合できるが、通常、各種皮膚外用剤中に0.01~30重量% (以下、単に「%」という。) 、好ましくは0.1~10%配合させるのがよい。

【0014】本発明の必須成分である海藻抽出物を配合した皮膚外用剤には、上記必須成分の他に、通常外用剤に用いられる原料、例えば、界面活性剤、油分、アルコール類、保湿剤、増粘剤、防腐剤、酸化防止剤、キレート剤、pH調整剤、香料、色素、紫外線吸収・散乱剤、ビタミン類、アミノ酸類、水等を配合することができる。

【0015】具体的には、界面活性剤としては、親油型グリセリンモノステアレート、自己乳化型グリセリンモノステアレート、ポリグリセリンモノステアレート、ソルビタンモノオレート、ポリエチレングリコールモノステアレート、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレート、ポリオキシエチレンセチルエーテル、ポリオキシエチレン化ステロール、ポリオキシエチレン化ラノリン、ポリオキシエチレン化蜜ロウ、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油等のノニオン界面活性剤、ステアリン酸ナトリウム、パルミチン酸カリウム、セチル硫酸ナトリウム、ラウリルリン酸ナトリウム、パルミチン酸トリエタノールアミン、ポリオキシエチレンラウリルリン酸ナトリウム、N-アシルグルタミン酸ナトリウム等のアニオン界面活性剤、塩化ステアリルジメチルベンジルアンモニウム、塩化ステアリルトリメチルアンモニウム等のカチオン界面活性剤、塩酸アルギルアミノエチルグリシン液、レシチン等の両性界面活性剤等を例示することができる。

【0016】油分としては、ヒマシ油、オリーブ油、カカオ油、椿油、ヤシ油、木口油、ホホバ油、グレープシード油、アボガド油等の植物油脂類、ミンク油、卵黄油等の動物油脂類、蜜ロウ、鯨ロウ、ラノリン、カルナバロウ、キャンデリラロウ等のロウ類、流動パラフィン、スクワラン、マイクロクリスタリンワックス、セレンワックス、パラフィンワックス、ワセリン等の炭化水素類、ラウリン酸、ミリスチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、イソステアリン酸、ベヘニン酸等の天然および合成脂肪酸類、セタノール、ステアリルアルコール、ヘキシルデカノール、オクチルドデカノール、ラウリルアルコール等の天然および合成高級アルコール類、ミリスチン酸イソプロピル、パルミチン酸イソプロピル、ミリスチン酸オクチルドデシル、オレイン酸オクチルドデ

シル、コレステロールオレート等のエステル類等を例示することができる。

【0017】保湿剤としては、グリセリン、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール、ソルビトール、ポリグリセリン、ポリエチレングリコール、ジプロピレングリコール等の多価アルコール類、アミノ酸、乳酸ナトリウム、ピロリドンカルボン酸ナトリウム等のNMF成分、ヒアルロン酸、コラーゲン、ムコ多糖類、コンドロイチン硫酸等の水溶性高分子物質等を例示することができる。

【0018】増粘剤としては、アルギン酸ナトリウム、キサンタンガム、珪酸アルミニウム、マルメロ種子抽出物、トラガントガム、デンプン等の天然高分子物質、メチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、可溶性デンプン、カチオン化セルロース等の半合成高分子物質、カルボキシビニルポリマー、ポリビニルアルコール等の合成高分子物質等を例示することができる。

【0019】防腐剤としては、安息香酸塩、サリチル酸塩、ソルビン酸塩、デヒドロ酢酸塩、パラオキシ安息香酸エステル、2,4,4'-トリクロロ-2'-ヒドロキシジフェニルエーテル、3,4,4'-トリクロロカルバニリド、塩化ベンザルコニウム、ヒノキチオール、レゾルシン、エタノール等を例示することができる。

【0020】酸化防止剤としては、ジブチルヒドロキシルエーテル、ブチルヒドロキシアニソール、没食子酸プロピル、アスコルビン酸等を、キレート剤としては、エデト酸二ナトリウム、エチレンジアミン四酢酸塩、ピロリン酸塩、ヘキサメタリン酸塩、クエン酸、酒石酸、グルコン酸等を、pH調整剤としては、水酸化ナトリウム、トリエタノールアミン、クエン酸、クエン酸ナトリウム、ホウ酸、ホウ砂、リン酸水素カリウム等をそれぞれ例示することができる。

【0021】紫外線吸収・散乱剤としては、2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン、オクチルジメチルパラアミノベンゾエート、エチルヘキシルパラメトキシサイナメート、酸化チタン、カオリン、タルク等を例示することができる。ビタミン類としては、ビタミンA、ビタミンB、ビタミンC、ビタミンD、ビタミンE、ビタミンF、ビタミンK、ビタミンP、ビタミンU、カルニチン、フェルラ酸、 γ -オリザノール、 α -リポ酸、オロト酸およびそれらの誘導体等を例示することができる。アミノ酸類としては、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、セリン、トレオニン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、シスチン、システイン、メチオニン、プロリン、ヒドロキシプロリン、アスパラギン酸、グルタミン酸、アルギニン、ヒスチジン、リジンおよびそれらの誘導体等を例示することができる。

【0022】なお、任意成分は、これらに限定されるも

のではない。上記必須成分と任意成分を適当に配合することにより、例えば、本発明の海藻抽出物0.01~30%、任意成分として油分0~80%、界面活性剤0~12%、保湿剤1~15%、精製水バランス、防腐剤微量を含有する皮膚外用剤を提供することができる。具体的には、クリーム、乳液、化粧水、美容液、パック剤、アンダーメイクアップ、ファンデーション、ゼリー剤、軟膏等の製品形態として用いることができる。

【0023】本発明のヒアルロニダーゼ阻害剤を皮膚化粧料として用いる場合の具体例を示すと以下の(1)~(4)の通りである。

(1) 皮膚用クリームの場合

本発明の海藻抽出物0.1~10%、油分20~70%、界面活性剤2~7%、保湿剤1~10%、精製水バランス、防腐剤微量、香料微量を含有する皮膚用クリーム。

【0024】(2) 乳液の場合

本発明の海藻抽出物0.1~10%、油分10~40%、アルコール類0~15%、界面活性剤1~5%、保湿剤1~10%、増粘剤0~2%、精製水バランス、防腐剤微量、香料微量を含有する乳液。

【0025】(3) 化粧水、美容液の場合

本発明の海藻抽出物0.1~10%、アルコール類5~20%、界面活性剤0~2%、保湿剤2~8%、増粘剤0~2%、酸化防止剤0~0.5%、キレート剤0~0.1%、pH調整剤0~0.2%、精製水バランス、防腐剤微量、色素0~微量、香料微量を含有する化粧水、美容液。

【0026】(4) パック剤の場合

本発明の海藻抽出物0.1~10%、アルコール類2~10%、保湿剤2~10%、無機粉体0~20%、造膜剤10~20%、精製水バランス、防腐剤微量、香料微量を含有するパック剤。

【0027】

【実施例】次に、実施例、試験例等により本発明を具体的に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

【0028】製造例（海藻抽出物の製造）

マツモの乾燥物100gを20倍量の水にて3時間攪拌し、その上澄みを濃縮および凍結乾燥することにより、マツモ抽出物16gを得た。また、同様に、マツモ以外の海藻、すなわち、緑藻類のヒトエグサ、アナオサ、オオアオサ、スジアオノリ、ハネモ、クビレツタ、ミル、ホソジュズモ、褐藻類のオキナワモズク、モズク、カジメ、Ecklonia maxima、ジャイアントケルプ、Lessonia nigrescens、ヒバマタ、Ascophyllum nodosum、Durvillea antarctica、シオミドロ、紅藻類のオゴノリ、アサクサノリ、スサビノリ、マクサ、ヒラクサ、Pterocladia tenuis、フクロフノリ、マフノリ、Eucheuma cottonii、Eucheuma spinosum、Gigartina chamisso

7

i、Iridaea pulchra、エゾツノマタ、トチャカ、ツノマタ、ダルス、カギノリ、アミクサについて、夫々の抽出物を得た。さらに、他の溶媒、すなわち、メタノール、エタノール、イソプロパノール、n-ブタノール、1,3-ブチレングリコール、アロピレングリコール、酢酸エチル、アセトン、メチルエチルケトン、アセトニトリル、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、クロロホルム、n-ヘキサン、ベンゼンについても、上記水と同様の方法で上記夫々の海藻類から抽出物を得た。

【0029】試験例1（ヒアルロニダーゼ阻害活性試験）

上記製造例で得た夫々の海藻抽出物（エキス試料）のヒアルロニダーゼ阻害活性の測定は、以下の方法で行った。

酵素（type IV-S from Bovine testis, SIGMA社製）溶液100 μ l（1,580unit/ml）に上記製造例で得*

$$\text{阻害率} = \frac{\text{コントロールOD}_{585\text{nm}} - \text{試料OD}_{585\text{nm}}}{\text{コントロールOD}_{585\text{nm}}}$$

【0031】上記製造例で得た夫々の海藻類の水抽出物（エキス試料）について、種々試料濃度での阻害率から

50%阻害濃度（IC₅₀）を算出した結果を下記表1に示す。数値が低い程、ヒアルロニダーゼ阻害活性が高い※

8

*た夫々の海藻抽出エキス試料200 μ lを加えて、37℃で20分間放置した。次に、酵素活性化剤（Compound 48/80, SIGMA社製）溶液（0.1mg/ml）200 μ lを加え、37℃で20分間放置した後、基質であるヒアルロン酸カリウム（from rooster comb, 和光純薬社製）溶液（0.4mg/ml）500 μ lを入れ、37℃で40分間放置した。次いで、0.4N水酸化ナトリウム溶液200 μ lを加えて反応を停止させた後、Morgan-Elson法の変法（J. Biol. Chem., 217, 959(1955)）で生成したN-アセチルヘキソサミン量を吸光度OD_{585nm}から求めた。また、酵素反応には0.1mM 酢酸緩衝液（pH 3.5）を用い、ヒアルロニダーゼ阻害活性は次式より求められる阻害率で算出した。

【0030】

【数1】

※ことを示す。

【0032】

【表1】

(ヒアルロニダーゼ阻害活性)

被 験 物 質		IC ₅₀ (μg/ml)
クロモグリク酸ナトリウム (対照)		13
緑藻類	ヒトエグサ抽出物	34
	アナアオサ抽出物	23
	オオアオサ抽出物	94
	スジアオノリ抽出物	29
	ハネモ抽出物	89
	クビレツタ抽出物	112
	ミル抽出物	73
	ホソジュズモ抽出物	—
褐藻類	マツモ抽出物	85
	オキナワモズク抽出物	63
	モズク抽出物	107
	カジメ抽出物	77
	<i>Ecklonia maxima</i> 抽出物	17
	ジャイアントケルブ抽出物	68
	<i>Lessonia nigrescens</i> 抽出物	23
	ヒバマタ抽出物	59
	<i>Ascophyllum nodosum</i> 抽出物	26
	<i>Durvillea antarctica</i> 抽出物	11
	シオミドロ抽出物	—
紅藻類	オゴノリ抽出物	—
	アサクサノリ抽出物	139
	スサビノリ抽出物	150
	マクサ抽出物	94
	ヒラクサ抽出物	98
	<i>Pterocladia tenuis</i> 抽出物	78
	フクロフノリ抽出物	35
	マフノリ抽出物	20
	<i>Eucheuma cottonii</i> 抽出物	118
	<i>Eucheuma spinosum</i> 抽出物	47
	<i>Gigartina chamissoi</i> 抽出物	101
	<i>Iridaea pulchra</i> 抽出物	10
	エゾツノマタ抽出物	12
	トチャカ抽出物	143
	ツノマタ抽出物	137
	ダルス抽出物	112
	カギノリ抽出物	—
	アミクサ抽出物	66

【0033】(表1の考察) 上記表1に示した結果から明らかなように、本発明の海藻抽出物、すなわち、緑藻類のヒトエグサ、アナアオサ、オオアオサ、スジアオノリ、ハネモ、クビレツタ、ミル、褐藻類のマツモ、オキナワモズク、モズク、カジメ、*Ecklonia maxima*、ジャイアントケルブ、*Lessonia nigrescens*、ヒバマタ、*Ascophyllum nodosum*、*Durvillea antarctica*、紅藻類のアサクサノリ、スサビノリ、マクサ、ヒラクサ、*Pterocladia tenuis*、フクロフノリ、マフノリ、*Eucheuma cottonii*、*Eucheuma spinosum*、*Gigartina chamissoi*、*Iridaea pulchra*、エゾツノマタ、トチャカ、ツノマタ、ダルス、アミクサの各抽出物は、ヒアルロニダーゼ阻害活性が知られているクロモグリク酸ナトリウム (対照) に匹敵する非常に高いヒアルロニダーゼ阻害活性を示すものが多く認められた。また、他の抽出溶媒から得られた抽出物も、水抽出物とほぼ同様の結果を示した。特に、* 50

* アオサ属のアナアオサ、カジメ属の*Ecklonia maxima*、レソニア属の*Lessonia nigrescens*、アスコフィラム属の*Ascophyllum nodosum*、ダービリア属の*Durvillea antarctica*、フノリ属のマフノリ、*Iridaea*属の*Iridaea pulchra*、エゾツノマタは、ヒアルロニダーゼ阻害活性が著しく高いことが判明した。これに対し、同じ海藻抽出物であっても、本発明の範囲外となる海藻抽出物、すなわち、緑藻類のジュズモ属のホソジュズモ、褐藻類のシオミドロ属のシオミドロ、紅藻類のオゴノリ属のオゴノリ、カギノリ属のカギノリの夫々の抽出物は、ヒアルロニダーゼ阻害活性を示さなかった。

【0034】実施例1、比較例1 (クリーム の製造) 下記表2に示す成分1~7および8~11を別々に混合溶解した後、成分8~11の溶液を攪拌しながら、ここに成分1~7の溶液を添加し乳化させた後、冷却しながら途中で成分12を加えて室温まで冷却し、下記表2に

1.1

示すクリームを調製した。なお、表中の数字は、配合量（重量％）を示し、POE（20）は、ポリオキシエチレンとその付加モル数を示す（以下の実施例等においても同様）。また、比較例1は、成分8の本発明の海藻抽出物を配合しないでクリームを調製した場合である（以下*（クリーム組成）

1.2

*下の比較例2～4においても海藻抽出物を配合しないで調製したものである）。

【0035】

【表2】

配 合 成 分	実施例1	比較例1
1 流動パラフィン（#70）	5.0	5.0
2 スクワラン	14.0	14.0
3 セトステアリアルアルコール	6.0	6.0
4 密ロウ	1.5	1.5
5 モノステアリン酸グリセリン	2.0	2.0
6 POE（20）ソルビタンモノラウレート	2.0	2.0
7 プロピルパラベン	0.1	0.1
8 海藻抽出物	0.3	—
9 ジグリセリン	5.0	5.0
10 メチルパラベン	0.2	0.2
11 精製水	バランス	バランス
12 香料	微量	微量

【0036】実施例2、比較例2（化粧水の製造）

※た。

下記表3に示す成分1～6を順次成分7に加えて溶解

【0037】

し、さらに成分8を加えて下記表3に示す化粧水を調製し※20（化粧水組成）

【表3】

配 合 成 分	実施例2	比較例2
1 海藻抽出物	0.2	—
2 1,3-ブチレングリコール	3.0	3.0
3 クエン酸	0.02	0.02
4 クエン酸ナトリウム	0.05	0.05
5 エタノール	18.0	18.0
6 メチルパラベン	0.1	0.1
7 精製水	バランス	バランス
8 香料	微量	微量

【0038】実施例3、比較例3（美容液の製造）

★【0039】

下記表4に示す成分1～4と成分5～9を別々に溶解

【表4】

後、混合して美容液を調製した。

★

（美容液組成）

配 合 成 分	実施例3	比較例3
1 海藻抽出物	2.0	—
2 グリセリン	3.0	3.0
3 カルボキシビニルポリマー （分子量100万～150万）	0.5	0.5
4 精製水	バランス	バランス
5 酢酸dl- α -トコフェロール	0.1	0.1
6 エタノール	10.0	10.0
7 POE（40）硬化ヒマシ油	0.5	0.5
8 メチルパラベン	0.1	0.1
9 香料	微量	微量

【0040】実施例4、比較例4（乳液の製造）

☆ら、途中で成分14を加えて室温まで冷却し、下記表5に示す乳液を調製した。

下記表5に示す成分1～7を70℃で加熱溶解した。一方、成分8～13を70℃で加熱溶解し、前記油脂溶液（成分1～7）を添加し、乳化させた後、冷却しながら ☆

【0041】

【表5】

13

(乳液組成)

14

配 合 成 分	実施例 4	比較例 4
1 流動パラフィン (#70)	10.0	10.0
2 イソプロピルミリステート	1.5	1.5
3 グリセリンモノステアレート	0.5	0.5
4 ステアリン酸	2.0	2.0
5 POE(20)ステアリルエーテル	0.7	0.7
6 グリチルレチン酸	0.1	0.1
7 ブチルパラベン	0.1	0.1
8 海藻抽出物	0.1	—
9 グリセリン	2.0	2.0
10 カルボキシビニルポリマー (分子量100万~150万)	0.1	0.1
11 エタノール	10.0	10.0
12 メチルパラベン	0.1	0.1
13 精製水	バランス	バランス
14 香料	微量	微量

【0042】試験例2(使用テスト評価結果)

上記製造例で得た各海藻の水抽出物を含む上記実施例1~4及び比較例1~4のクリーム、化粧水、美容液、乳液の有効性を下記の使用テストにより評価した。

(使用テスト) 女性(30~50才)5名づつに、1日 20
2回(朝と夜)、連続3カ月間実施例1~4と比較例1~4をハーフ・フェイス法で左右顔面に別々に使用させた後、小皺(A)および質〔艶(B)、潤い(C)〕に*

*ついてアンケート調査を行った。アンケート調査は、実施例(本発明品)が良い場合には○(改善効果あり)、実施例(本発明品)と比較例が変わらない場合には△、比較例が良い場合には×(改善効果なし)とした。これらの使用テストの結果を下記表6に示す。

【0043】

【表6】

1.5

(使用テスト評価結果)

1.6

被 験 物 質		実施例 1	実施例 2	実施例 3	実施例 4
		比較例 1	比較例 2	比較例 3	比較例 4
		(クリーム)	(化粧水)	(美容液)	(乳液)
評 価		A B C	A B C	A B C	A B C
緑藻類	ヒトエグサ抽出物	○ ○ ○			
	アナアオサ抽出物				○ ○ ○
	オオアオサ抽出物		○ ○ ○		
	スジアオノリ抽出物				○ ○ ○
	ハネモ抽出物	○ ○ ○			
	クビレヅタ抽出物			○ ○ ○	
	ミル抽出物	○ ○ ○			
	ホソジュズモ抽出物			× × ×	
褐藻類	マツモ抽出物		○ ○ ○		
	オキナワモズク抽出物				○ ○ ○
	モズク抽出物			○ ○ ○	
	カジメ抽出物		○ ○ ○		
	Ecklonia maxima抽出物	○ ○ ○			
	ジャイアントケルプ抽出物		○ ○ ○		
	Lessonia nigrescens抽出物			○ ○ ○	
	ヒバマタ抽出物	○ ○ ○			
紅藻類	Ascophyllum nodosum抽出物				○ ○ ○
	Durvillea antarctica抽出物				○ ○ ○
	シオミドロ抽出物			△ △ △	
	オゴノリ抽出物	× × ×		× × ×	
	アサクサノリ抽出物			○ ○ ○	
	スサビノリ抽出物		○ ○ ○		
	マクサ抽出物			○ ○ ○	
	ヒラクサ抽出物			○ ○ ○	
藻類	Pterocladia tenuis抽出物		○ ○ ○		
	フクロフノリ抽出物				○ ○ ○
	マフノリ抽出物				○ ○ ○
	Eucheuma cottonii抽出物	○ ○ ○			
	Eucheuma spinosum抽出物		○ ○ ○		
	Gigartina canaliculata抽出物			○ ○ ○	
	Iridaea pulchra抽出物				○ ○ ○
	エソツノマタ抽出物	○ ○ ○			
類	トチャカ抽出物			○ ○ ○	
	ツノマタ抽出物	○ ○ ○			
	ダルス抽出物			○ ○ ○	
	カギノリ抽出物			△ △ △	
	アミクサ抽出物				○ ○ ○

表中のAは小皺、Bは艶、Cは潤いを表し、また、空欄部は未実施を表す。

【0044】(表6の考察) 上記表6に示す結果から明らかなように、本発明範囲の海藻の抽出物を配合した製剤(実施例)〔クリーム、化粧水、美容液、乳液〕は、小皺(A)、艶(B)、潤い(C)の改善効果が認められた。この効果は、海藻抽出物に含まれるヒアルロニダーゼ阻害活性物質が、皮膚細胞におけるヒアルロン酸の分解を抑制、そのレベルを維持することにより、皮膚の保湿性、柔軟性、弾力性の低下を抑え、顕著な皮膚細胞の賦活化及び皮膚老化防止効果等を図り、皺や肌荒れの発生を予防し、滑らかでしっとりとした若々しい肌を与えたものと推測される。一方、同じ海藻抽出物であっても、本発明範囲外となる海藻の抽出物、すなわち、緑藻類のジュズモ属のホソジュズモ、褐藻類のシオミドロ属のシオミドロ、紅藻類のオゴノリ属のオゴノリ、カギノリ属のカギノリの夫々の抽出物を配合した製剤(比較例)〔クリーム、化粧水、美容液、乳液〕は、小皺

* (A)、艶(B)、潤い(C)とも改善効果は認められなかった。

【0045】

【発明の効果】本発明によれば、ヒアルロン酸分解抑制作用により、皮膚細胞の賦活化、皮膚の老化防止が図られ、皺や肌荒れの発生を予防、滑らかでしっとりとした若々しい肌を与える効果が得られ、これを配合することにより、安全性の高い皮膚外用剤等に好適なヒアルロニダーゼ阻害剤が提供される。また、本発明のヒアルロニダーゼ阻害剤は、関節の湿潤性を保ち、関節の治療剤等としても利用でき、また、抗炎症、抗アレルギー剤としても有用である。さらに、本発明のヒアルロニダーゼ阻害剤は、古くから食用等に用いられる海藻類から抽出されるものであるため、人体への安全性が極めて高く、しかも、優れたヒアルロニダーゼ阻害活性を有することから医薬品、医薬部外品、化粧品等の各種用途に使用する

ことができる。